

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR



TRABAJO FIN DE MÁSTER

Análisis de soluciones para sistemas de medida basados en potencióstato

Máster Universitario en Ingeniería de Telecomunicación

Autor: Álvarez Pérez, Gabriel José

Tutor: López Colino, Fernando Jesús

Julio 2019

Análisis de soluciones para sistemas de medida basados en potenciostato

AUTOR: Gabriel José Álvarez Pérez

TUTOR: Fernando Jesús López Colino

HCTLab

Escuela Politécnica Superior

Universidad Autónoma de Madrid

Julio 2019

Agradecimientos

Este trabajo va dedicado a muchas personas, ya que ha sido largo y complicado llegar hasta este punto.

Gracias a mi tutor Fernando, por aguantar todas las preguntas, dudas y contratiempos que han ido surgiendo a lo largo de la realización del trabajo. Ha sido un largo camino pero al final se ha conseguido llegar a la meta.

Gracias a mi familia, en especial a mi madre, no existe mejor alarma, que sigue preguntando cada día hasta que sale adelante, y además no se puede desactivar. Gracias a todos mis amigos y compañeros, de la universidad y del trabajo, por el apoyo en todo momento para seguir adelante y llevar a cabo este hito finalmente.

Espero que este trabajo sirva de referencia para otras personas, en especial para mi hermano cuando llegue su momento de realizarlo.

El camino hasta este punto ha sido largo y costoso, pero con esto se concluye otra etapa más de la vida llena de buenos y malos momentos. Trabajos interminables, exámenes, horas y horas de estudios. Pero también pachangas con profesores y amigos, esos momentos después de un examen en la cafetería, en el jardín de la EPS, en la AET. Todos los buenos recuerdos de todos estos años en la Escuela Politécnica Superior de la Universidad Autónoma de Madrid que hacen que esta haya sido una etapa de la vida inolvidable.

Gracias a todas las personas que habéis pasado en algún momento desde que llegué a este lugar para iniciar el Grado en Ingeniería y Servicios de Telecomunicación, espero que el futuro sea por lo menos tan bueno como han sido todos estos años aquí

Resumen

En este trabajo se pretende realizar un análisis de distintos sistemas basados en potenciostatos que hacen uso de biosensores enzimáticos y una celda de tres electrodos. Se enmarca dentro del entorno de los análisis químicos con el uso de la amperometría como técnica de medida.

Para el desarrollo de este trabajo se han usado como referencia otros dos potenciostatos diseñados y contruidos en el HCTLab. Con ello, se ha realizado el diseño y desarrollo de un nuevo sistema de control para un potenciostato comercial, el LMP9100. Como base de su diseño se ha usado una BeagleBone para llevar el control de este nuevo dispositivo.

Tras finalizar el diseño y construcción del nuevo sistema, se han realizado una serie de pruebas con los tres sistemas que se tienen. Las pruebas se realizan bajo las mismas condiciones de forma que se pueda obtener una comparación equivalente de los tres sistemas.

Con todas las pruebas realizadas sobre cada sistema, se comparan los resultados obtenidos. Se marcaran los puntos sobre los que destaca cada sistema, así como se verifica el correcto funcionamiento del nuevo sistema construido.

Abstrac

In this work, it is pretended to perform an analysis of different systems based on potentiostats that make use of enzymatic biosensors and a three-electrode cell. It is located in the environment of chemical analysis with the use of amperometry as a measurement technique.

For the development of this work, two other potentiostats designed and built in the HCTLab have been used as a reference. With these references, a new control system for a commercial potentiostat, the LMP9100, has been designed and developed. As a basis for its design, a BeagleBone has been used to take control of this new device.

After finalizing the design and construction of the new system, a series of tests have been made with the three systems that are available. The tests are made under the same conditions so that an equivalent comparison of the three systems can be obtained.

With all the tests performed on each system, the results obtained are compared. The points on which each system stands out will be marked, as well as the correct functioning of the new constructed system will be verified.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 MOTIVACIÓN	1
1.2 OBJETIVOS.....	2
1.3 ORGANIZACIÓN DE LA MEMORIA	3
2 ESTADO DEL ARTE	5
2.1 BIOSENSORES.....	5
2.2 MÉTODOS ELECTROANALÍTICOS	6
2.2.1 Voltamperometría.....	6
2.3 CELDA ELECTROQUÍMICA	8
2.4 POTENCIOSTATOS	9
2.4.1 Principios de operación	10
2.4.2 Potenciostatos de referencia.....	12
3 DISEÑO	15
3.1 ELEMENTOS DEL SISTEMA DISEÑADO.....	17
3.1.1 Componentes del circuito.....	19
3.1.1 Sistema de control.....	21
3.1.2 Funcionamiento del circuito.....	22
3.1.3 Diseño del circuito PCB.....	23
4 DESARROLLO DEL SOFTWARE	29
4.1 DISEÑO DEL PROGRAMA SOFTWARE	29
4.2 CAMBIOS EN EL SISTEMA DEL HCTLAB	31
5 PRUEBAS Y RESULTADOS	33
5.1 ENTORNO DE PRUEBAS.....	33
5.2 PRUEBAS CON EL SISTEMA LMP9100	35
5.3 PRUEBAS CON EL POTENCIOSTATO DEL HCTLAB	43
5.4 PRUEBAS CON EL SISTEMA INBEA.....	50
6 CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO.....	57
6.1 CONCLUSIONES.....	57
6.2 TRABAJO FUTURO	58
REFERENCIAS	59

GLOSARIO	61
ANEXOS	I
A ESQUEMA SISTEMA LMP9100	I
B CAPAS SUPERIOR E INFERIOR DEL SISTEMA LMP9100	III

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 ELECTRODO DE TRABAJO EN EL QUE SE OBSERVA LA ENZIMA REACCIONANTE	11
FIGURA 2 ELECTRODO AUXILIAR	11
FIGURA 3 ELECTRODO DE REFERENCIA	12
FIGURA 4 ESQUEMA GENERAL DE FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA A CONSTRUIR	15
FIGURA 5 ESQUEMA GENERAL DE FUNCIONAMIENTO DEL PROTOCOLO I2C [11]	16
FIGURA 6 FUNCIONAMIENTO I2C PARA EL LMP9100	17
FIGURA 7 ESQUEMA DE PINES DEL LMP9100 [10]	18
FIGURA 8 ESQUEMA DE COMPONENTES INTERNOS DEL LMP9100 [10]	18
FIGURA 9 ESQUEMA DE COMPONENTES INTERNOS DEL ADS1114-Q1 [23]	20
FIGURA 10 PINES DEL ADC1114-Q1 [23]	21
FIGURA 11 SISTEMA DE CONTROL BEAGLEBONE [9]	22
FIGURA 12 LINEA DE PINE P9 DE LA BEAGLEBONE [9]	24
FIGURA 13 VISTA SUPERIOR DEL SISTEMA PARA EL LMP9100	25
FIGURA 14 VISTA INFERIOR DEL SISTEMA PARA EL LMP9100	25
FIGURA 15 LOS TRES SISTEMAS DE POTENCIOSTATOS A COMPARAR EN ESTE TRABAJO. LMP9100 (SUPERIOR), SISTEMA DEL HCTLAB (MEDIO), Y INBEA (INFERIOR).	27
FIGURA 16 ELECTRODOS DE TRABAJO, REFERENCIA Y AUXILIAR PARA LAS PRUEBAS	33
FIGURA 17 CELDA PARA LOS TRES ELECTRODOS CON LA DISOLUCIÓN NEUTRA	34
FIGURA 18 SISTEMA LMP9100 CONECTADO A LA CELDA Y PREPARADO PARA LAS PRUEBAS	35
FIGURA 19 ESTABILIZACIÓN DEL SISTEMA LMP9100	36
FIGURA 20 ESTABILIZACIÓN DEL SISTEMA LMP9100 SIN FILTRADO	37
FIGURA 21 RESPUESTA DEL LMP9100 ANTE 100 UL	38
FIGURA 22 RESPUESTA DEL LMP ANDTE 100 UL SIN FILTRAR	38
FIGURA 23 RESPUESTA DEL LMP9100 EN TODA LA PRIMERA PRUEBA	39
FIGURA 24 ESTABILIZACIÓN DEL SISTEMA LMP9100 EN LA SEGUNDA PRUEBA	40
FIGURA 25 RESPUESTA LMP9100 A 50 UL	40
FIGURA 26 RESPUESTA DEL SISTEMA LMP9100 A 50 UL SIN FILTRADO	41
FIGURA 27 RESPUESTA DEL LMP9100 A UNA SEGUNDA APLICACIÓN	41
FIGURA 28 RESPUESTA DEL LMP9100 EN TODO EL EXPERIMENTO	42
FIGURA 29 SISTEMA DEL HCTLAB CONECTADO A LA CELDA DE 3 ELECTRODOS Y PREPARADO PARA LAS PRUEBAS	43
FIGURA 30 ESTABILIZACIÓN DEL SISTEMA DEL HCTLAB	44
FIGURA 31 RESPUESTA DEL SISTEMA DEL HCTLAB A 100 UL	44
FIGURA 32 RESPUESTA SISTEMA HCTLAB SIN FILTRO	45
FIGURA 33 SEGUNDA RESPUESTA DEL SISTEMA DEL HCTLAB A 100 UL	45
FIGURA 34 REACCIÓN TOTAL DEL SISTEMA DEL HCTLAB A LA PRUEBA	46

FIGURA 35 ESTABILIZACIÓN DEL SISTEMA HCTLAB.....	47
FIGURA 36 RESPUESTA DEL SISTEMA DEL HCTLAB A 50 UL.....	47
FIGURA 37 SEGUNDA APLICACIÓN DE 50 UL EN EL SISTEMA DEL HCTLAB	48
FIGURA 38 TERCERA APLICACIÓN DE 50 UL EN EL SISTEMA DEL HCTLAB	48
FIGURA 39 RESPUESTA DE TODA LA SEGUNDA PRUEBA DEL SISTEMA DEL HCTLAB	49
FIGURA 40 SISTEMA INBEA CONECTADO A LA CELDA Y PREPARADO PARA LAS PRUEBAS	50
FIGURA 41 ESTABILIZACIÓN INICIAL DEL SISTEMA INBEA.....	51
FIGURA 42 RESPUESTA A 100 UL DEL SISTEMA INBEA	52
FIGURA 43 RESPUESTA GLOBAL DE LA PRIMERA PRUEBA DEL SISTEMA INBEA	53
FIGURA 44 ESTABILIZACIÓN DEL SISTEMA INBEA PARA LA SEGUNDA PRUEBA.....	54
FIGURA 45 RESPUESTA A 50 UL DEL SISTEMA INBEA	55
FIGURA 46 RESPUESTA GLOBAL DE LA SEGUNDA PRUEBA DEL SISTEMA INBEA	56

1 Introducción

1.1 Motivación

El análisis de las sustancias químicas que conforman un compuesto es de vital importancia para múltiples campos: medicina, nutrición, fabricación, etc. En [1] [2] [3] y [4] ponen de ejemplo cómo empresas destinadas a la producción de lácteos, cerveza, y durante los procesos de fermentación, tienen la necesidad de realizar una detección de la concentración, por ejemplo, de ácido láctico. La incorrecta detección de éste puede producir que el producto no alcance la calidad necesaria y con ello producir pérdidas económicas en las empresas destinadas a la elaboración de los diferentes productos.

Como consecuencia a este problema, se hace uso de potenciostatos y técnicas de medidas de concentración para solventarlo. Según [5], un potenciostato se puede definir como el dispositivo capaz de realizar la medida de las concentraciones de cierto reactivo que se dan en una celda de tres electrodos. En [6] y [7] se expone como la mayoría de los métodos actuales hacen uso de la detección electroquímica y kits enzimáticos, pese a su elevado coste. Tanto los métodos de análisis, como el tipo de sistema requerido, obligan a tener un personal cualificado para su uso.

Pese a esto, en los últimos años ha habido diferentes avances en los componentes, materiales y las técnicas de medida. Esto ha permitido simplificar el diseño y fabricación de estos sistemas. Junto con el uso de sensores bioenzimáticos ha permitido abaratar su coste. Sin embargo, todavía se requiere de un personal cualificado para el empleo de estos sistemas.

Actualmente existe un sistema ya desarrollado por el grupo HCTLab [8], y un sistema Inbea [7] diseñado, junto al equipo de Inbea Biosensores SL en el HCTLab de la EPS. Ambos sistemas capaces de realizar las funciones de medidas de potencial de una celda de tres electrodos mediante el uso de sensores bioenzimáticos. El método empleado por ambos es la amperometría.

Se desea realizar el diseño y construcción de un sistema capaz de realizar las mismas funciones que los dos sistemas mencionados anteriormente. Este nuevo sistema se basa en un potenciómetro comercializado que habrá que adaptar para la realización de las pruebas y posterior comparación con los otros dos sistemas para la verificación de su funcionamiento y comparación de los tres sistemas y ver los puntos en los que destaca cada uno.

1.2 Objetivos

Como se ha expuesto en la sección anterior, en el HCTLab [8] se ha desarrollado un sistema de un potenciómetro. Como base del desarrollo se ha empleado una BeagleBone [9], que es la encargada de su control para la obtención de las medidas de corriente que se obtienen del sistema cuando se dan las reacciones de los experimentos.

También, se posee el sistema Inbea [7], el cual es totalmente autónomo. Este sistema únicamente necesita estar conectado a un ordenador para interactuar con su interfaz gráfica. Esta interfaz ayuda a poder visualizar los resultados de las pruebas que se están realizando de forma que se puede ver la respuesta del sistema en el momento que ocurre. El sistema del HCTLab también posee una interfaz de usuario remota que requiere de otro equipo para su uso.

Por último, tenemos el potenciómetro comercial llamado LMP9100 [10], que es capaz de realizar un amplio abanico de funciones, pero que en este caso se preparará para realizar las mismas funciones que los otros dos sistemas descritos. Para ello, habrá que realizar el diseño y construcción de un sistema para su control y visualización de resultados.

Los tres sistemas estarán preparados para realizar el mismo tipo de experimento en condiciones de trabajo similares. Teniendo este punto en cuenta, los objetivos de este trabajo son:

- El diseño y desarrollo de una placa PCB para el potenciómetro comercial LMP9100 y su acondicionamiento para el correcto funcionamiento. A través de la conexión

con una BeagleBone Black [9] mediante el protocolo I2C [11] para la transferencia de datos y su almacenamiento.

- Realización de un programa encargado de realizar toda la comunicación para el intercambio de datos con el potenciostato comercial LMP9100. También, se realizarán pruebas sobre el sistema para comprobar su funcionamiento y comparar resultados.
- El ajuste de sistema del HCTLab para la obtención de las medidas del potenciostato y almacenamiento de las mismas.
- Realizar pruebas bajo las mismas condiciones de trabajo de los tres sistemas mencionados. Resaltar los resultados ofrecidos por cada sistema. Algunos puntos pueden ser el ruido, amplitud, velocidad de reacción, tiempo de estabilización, etc.

Al final se obtendrá una comparación de las distintas partes sobre las que destaca cada sistema sobre los resultados de la prueba. Con todo este proceso se habrá verificado a su vez, la correcta construcción y programación del nuevo sistema con el LMP9100.

1.3 Organización de la memoria

La memoria consta de los siguientes capítulos:

- En primer lugar, tenemos la motivación que ha llevado a la realización de este trabajo, así como los objetivos que se pretenden conseguir de este.
- En el segundo capítulo, se hace una pequeña introducción a los diferentes conceptos que se manejan en estos campos de estudio, tanto métodos empleados para las medidas, componentes usados, principios de operación, etc.
- En el tercer capítulo, se describe el proceso del diseño y construcción de la placa PCB que se quiere construir con el potenciostato LMP9100.
- En el cuarto capítulo, se describe el proceso del desarrollo que se ha realizado del software para controlar el nuevo sistema. También, las modificaciones sobre el sistema ya existente del sistema del HCTLab.

- En el quinto capítulo, se realizan las distintas pruebas individuales del sistema construido. Así como de los otros dos sistemas para comparar los resultados obtenidos y verificar el funcionamiento del nuevo sistema del potenciómetro LMP9100.
- En el sexto capítulo, se realiza una conclusión recalando los aspectos más destacados de cada uno de los tres sistemas y sus diferencias más marcadas. También se mencionan los avances sobre el sistema del LMP9100 que se pueden seguir en el futuro para continuar investigando sobre este campo.

2 Estado del arte

A continuación, se expone el estado del arte, donde se explican las bases sobre las que se ha realizado este trabajo, como el concepto de biosensores, métodos electroanalíticos, celda electroquímica y potencióstatos.

2.1 Biosensores

En [5] y [12] se definen los biosensores como dispositivos o instrumentos que forman una de las bases para los funcionamientos de los potencióstatos que realizan medidas bioanalíticas. Según [5] y [12], su composición consta generalmente de tres partes fundamentales que se dividen en:

Un sensor de carácter biológico, que será el que reaccione ante los diferentes experimentos a los que se le exponga. Un transductor que hace las veces de canal de transmisión entre el sensor y el detector, transformando la señal producida por el sensor. El detector, sería la parte final a la que llega la señal transformada y que este se encargaría de propagar al resto del sistema al que pudiese entrar conectado, enviando una señal que pueda ser medida.

La base del funcionamiento es exponer el sensor biológico a algún tipo de perturbación que provoque alguna reacción sobre este. De esta forma, esa reacción se propagaría a través del transductor hasta el detector. La señal que recibe el detector, es transformada a un tipo de señal medida y cuantificada de forma más sencilla por otro sistema.

Ese sería el funcionamiento que realizaría el biosensor continuamente. Este conectado a otros sistemas para realizar las distintas técnicas de análisis, ya sea de sustancias químicas o biológicas, hacen que la labor de realizar estos análisis sea mucho más sencilla.

2.2 Métodos electroanalíticos

En [13] [14] y [15] se definen los métodos electroanalíticos como las distintas técnicas que se han empleado para la química analítica. En los experimentos se pone una sustancia sobre estudio, comúnmente denominado como analito, al que se le aplica un potencial eléctrico. Estos experimentos pueden darse haciendo el uso de una celda electroquímica que contendrá el analito a estudiar.

Los métodos electroanalíticos están clasificados en diferentes categorías según el tipo de reacción de perturbación o medida se esté aplicando durante el experimento. Hay tres grupos principales que destacan sobre todos los demás por ser los más usados.

- Potenciometría: Se encarga de medir la diferencia de potencial en el electrodo
- Coulombimetría: Se encarga de medir la corriente de las celdas con el tiempo.
- Voltamperometría: Se encarga de medir la corriente de las celdas mientras se altera el potencial de estas.

Nos centraremos en la voltamperometría ya que en este trabajo se hace uso de una de las subclases que ésta posee.

2.2.1 Voltamperometría

En [14] y [15] se define la voltamperometría como el método basado en aplicar un potencial sobre la superficie de un electrodo. Las medidas de intensidad resultantes son obtenidas de un sistema de tres electrodos, definido como celda electroquímica. Con este método se puede determinar el potencial de reducción y oxidación de la sustancia bajo análisis, así como la cantidad de la misma.

En [14] y [15] también se define este método como no destructivo, ya que, durante la reacción, la cantidad de la sustancia bajo análisis apenas es consumida durante las pruebas por los electrodos. Además, que para este tipo de experimentos solo es necesaria una cantidad pequeña del analito a estudiar.

La voltamperometría tiene varias subclases, pero la que se emplea en todos los dispositivos bajo estudio de este trabajo es la amperometría.

Amperometría

En [14] y [15] se define la amperometría como una subclase de la voltamperometría. En este método, el electrodo de trabajo se somete a unos potenciales constantes durante un periodo de tiempo. El potencial constante se mantiene entre los electrodos de trabajo y referencia, obteniendo como resultado la corriente a medir para el experimento en el electrodo de trabajo. La corriente resultante, que se ha generado en el experimento, es proporcional a la concentración de analito bajo estudio.

Este método resulta de gran importancia en la electroquímica actual, debido especialmente al enfoque que se le da para los estudios de los procesos de reducción u oxidación (redox). El proceso de realización de estos experimentos se puede definir de manera general como se describe en [13] [14] y [15] y que se explicará a continuación.

Se posee la celda electroquímica con los electrodos de trabajo, referencia y auxiliar. A esta celda se le aplicará una perturbación, aplicando el potencial sobre los electrodos, y se analizará la respuesta del sistema ante esta perturbación inicial.

El sistema, debería empezar a reaccionar hasta llegar a un estado de estabilidad en la que la curva de la intensidad resultante sea prácticamente constante. Esto constituiría la calibración inicial del sistema antes de añadir la muestra a analizar al encontrarse en una disolución neutra.

Una vez se ha realizado la estabilización del sistema de forma inicial, se comienza la calibración del sistema con el analito que se quiere analizar. Añadiendo cantidades conocidas del analito bajo estudio, se observa la respuesta del sistema hasta que vuelve a quedar estable. Este proceso se puede repetir numerosas veces para realizar el calibrado del sistema.

Con el calibrado ya establecido, se vuelve a poner la disolución neutra con el sistema para poder realizar los diferentes experimentos que se deseen y ver las respuestas del sistema antes las concentraciones. El estado inicial antes de los experimentos debe ser el de la disolución neutra sin restos de muestras anteriores de forma que sea lo más limpia posible.

En [15] se expone como la ventaja que distingue a la amperometría frente a otras formas de voltamperometría, es que las corrientes que se miden son un promedio en el tiempo. Esto ofrece a la amperometría una mayor precisión en las medidas obtenidas frente al resto de técnicas.

2.3 Celda electroquímica

En [16] se define la celda electroquímica como el sistema que puede obtener energía eléctrica fruto de una reacción química, o a partir de una inducción de energía eléctrica, iniciar una reacción química. En [16] se definen dos tipos fundamentales de estas celdas, y en ambas se produce una reacción redox.

- **La celda galvánica o voltaica**, por ejemplo, serían las pilas y baterías, en las que se produce una reacción química a partir de la que se genera la energía eléctrica. En este tipo de celdas se encuentran las que una vez agotado el reactivo, es muy costoso restaurar su estado inicial, y son conocidas como primarias. Por el otro lado, se encuentran las que se pueden recargar y devolver a su estado inicial una vez agotadas.
- **La celda electrolítica** es en la que la reacción química redox se produce debido a la inducción de una energía eléctrica. En la mayoría de estas reacciones se descompone una sustancia química. Por este proceso en el que se consume una sustancia, el proceso recibe el nombre de electrolisis. En este tipo de celdas, las reacciones de oxidación y reducción se producen en el mismo recipiente, ya que los electrodos no necesitan estar separados. Pese a no existir separación, la oxidación se da en el ánodo, donde se pierden los electrones. Por otro lado, la reducción se da en el cátodo, donde se ganan los electrones.

En este trabajo se hace uso de la celda electrolítica en la que todos los electrodos se encuentran en la misma celda y donde se producirán todas las reacciones.

2.4 Potenciostatos

En [17] [18] y [19] se define el potenciostato como el dispositivo de carácter electrónico necesario para controlar la celda electrolítica. Es el lugar donde se ejecutan algunos de los experimentos mencionados en la sección 2.2 de este trabajo, como la potenciometría o la voltamperometria.

El funcionamiento básico de este dispositivo viene caracterizado por el mantenimiento de un potencial constante sobre el electrodo de trabajo respecto al electrodo de referencia. Para lograr esto, hace uso del electrodo auxiliar y así es capaz de mantener esa diferencia de potencial constante.

Este dispositivo, es muy frecuente en los estudios de electroquímica moderna. Siempre que sea necesario el uso de un sistema de tres electrodos para las investigaciones de las reacciones redox. Se debe tener en cuenta que la dimensión de los resultados aportados por estos experimentos, dependen también del propio experimento. En el caso de la amperometría, por ejemplo, la intensidad se mide frente al tiempo para observar el tiempo que tarda el sistema en estabilizarse.

Como se ve en [17], los potenciostatos más modernos, son capaces de realizar sus funciones de forma autónoma. Generalmente, conectados a un ordenador principal a través de una interfaz gráfica para poder controlar el tipo de experimento a realizar. También existe la posibilidad del almacenamiento de los datos para poder realizar un mejor análisis de los resultados en cualquier momento.

2.4.1 Principios de operación

En [19], Hickling realiza una explicación sobre como realizo la construcción del primer potenciostato de tres electrodos. El plan era mantener todo el potencial de la celda con la ayuda de un tercer electrodo, el electrodo de referencia, hasta la fecha los potenciostados se componían de dos electrodos. Este sistema funciona comparando la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y referencia, haciendo que el auxiliar aplique una corriente para mantener el potencial.

Por medio de un amplificador operacional se realiza el control se mantiene el potencial igualado entre los electrodos de trabajo y referencia. Este proceso se realiza mediante el ajuste automático de la salida de este amplificador.

Para entender que función realiza cada uno de los tres electrodos de la celda, se van a describir a continuación:

El electrodo de trabajo (Figura 1), es el electrodo donde se encuentra la enzima reaccionante que se va a consumir durante el experimento. Por ello, es el lugar donde se da la reacción de oxidación o reducción del experimento. En [18] y [19] se define que según la reacción que se esté produciendo, recibe el nombre de ánodo en caso de estarse produciendo la oxidación, o cátodo en caso de reducción. También, se explica que los electrodos de trabajo más comunes se componen de materiales inertes como oro, plata o platino, de forma que no interfiera en la reacción que se produce en él.

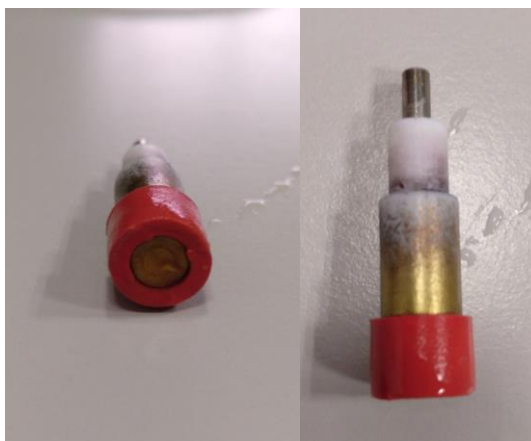


Figura 1 Electrodo de trabajo en el que se observa la enzima reaccionante

El electrodo auxiliar (Figura 2), como explica el funcionamiento de Hickling en [19], es el encargado de realizar el ajuste el potencial que se está aplicando sobre la celda de los tres electrodos. De esta forma con la ayuda de este electrodo se consigue mantener la diferencia de potencial entre los electrodos de Trabajo y Referencia.

El electrodo auxiliar a veces también recibe la denominación de contraelectrodo. Estos electrodos suelen fabricarse a partir de materiales inertes electroquímicamente, como oro, platino o carbono, para no interferir en la reacción de la celda.



Figura 2 Electrodo auxiliar

El electrodo de referencia (Figura 3), es el que viene caracterizado por poseer un potencial ya conocido, y que es con el que se establece la diferencia de potencial que se desea mantener respecto al electrodo de trabajo. La combinación de este electrodo junto a los de trabajo y auxiliar, hace que sea posible controlar la celda de una forma mucho más fiable.

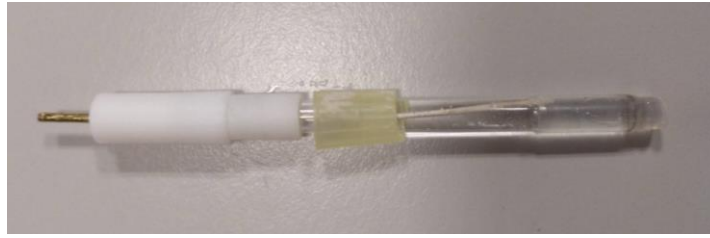


Figura 3 Electrodo de Referencia

Los tres potenciostatos que se muestran en este trabajo hacen uso de la celda de tres electrodos para las pruebas que se realizarán.

2.4.2 Potenciostatos de referencia

Como se ha comentado inicialmente en este trabajo, se poseen dos potenciostatos diseñados y fabricados por el HCTLab. Con estos dos sistemas, se va a comparar el nuevo potenciostato que se va a construir en este trabajo.

El primero es el sistema Inbea, diseñado junto al equipo de Inbea Biosensores SL [7]. Se ha desarrollado un sistema de un potenciostato para una celda de tres electrodos con un interfaz de usuario para la realización de las pruebas.

Este sistema se conecta como esclavo de un PC que realiza la conexión con el potenciostato para iniciar la recogida de las medidas de las reacciones a analizar. Posee diferentes parámetros programables para la realización de las pruebas. Todo ello a partir de una interfaz gráfica diseñada específicamente para este sistema y su uso. La interfaz gráfica no es necesaria para el funcionamiento del dispositivo. Toda la información sobre los diferentes componentes empleados para su construcción, están en la memoria [7] del diseño del sistema.

Por otro lado, tenemos sistema diseñado exclusivamente por el HCTLab [8], que emplea el mismo funcionamiento que el sistema anterior, pero consiguiendo unas dimensiones menores. Este sistema emplea una BeagleBone como base del diseño para su uso. Posee una interfaz gráfica remota que hace uso de otro sistema para su funcionamiento. La

comunicación de este potencióstato con el sistema de control de la Beaglebone se realiza por el protocolo SPI [8].

En las siguientes secciones se explicará el diseño y fabricación de otro sistema de potencióstato de características similares a los dos anteriores. Posteriormente realizaremos su comparación ante los resultados obtenidos en diferentes experimentos y a su vez verificar la correcta construcción del nuevo sistema del LMP9100.

3 Diseño

En este apartado se va a describir todo el proceso que se ha llevado a cabo para el desarrollo del sistema del potenciostato para la realización de los experimentos electroquímicos.

Lo primero que se ha hecho, es definir el esquema general de funcionamiento que va a tener el sistema que se va a diseñar. También, se ha tenido en cuenta las técnicas necesarias a la hora de la construcción del sistema para evitar posibles errores en la construcción o diseño del mismo, como la necesidad de condensadores de desacoplo, alimentaciones necesarias para cada elemento, líneas de transmisión necesarias, etc.

El esquema simplificado del sistema (Figura 4) consta de la celda de tres electrodos en la que se producirán las reacciones del experimento, conectado al sistema del potenciostato. El sistema del potenciostato está dedicado a realizar la toma de las medidas de la reacción que se produce, y un sistema de control que se encargará de definir los parámetros del potenciostato y almacenar los datos que llegan desde este. Por último, se conectaría el sistema de control del potenciostato conectado a un para controlarlo.

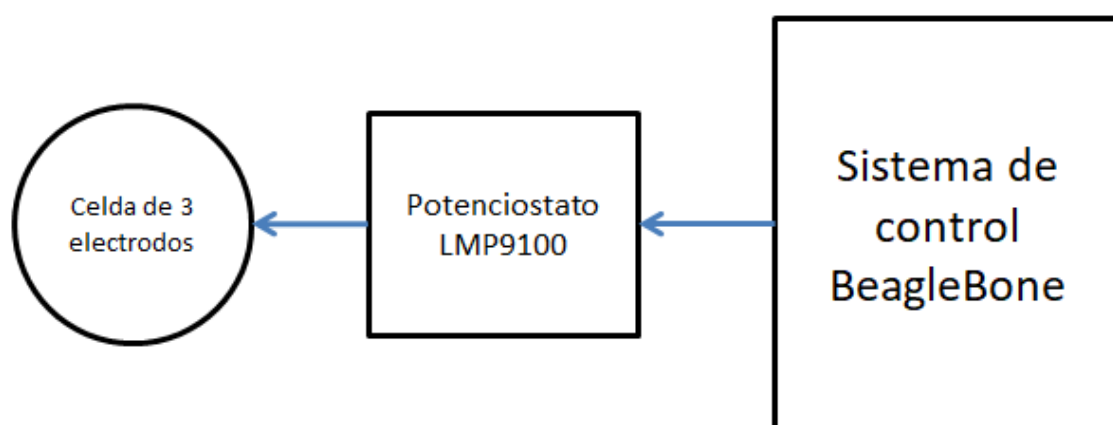


Figura 4 Esquema general de funcionamiento del sistema a construir

Como método de comunicación se ha elegido el protocolo I2C, ya que es el compartido por los componentes programables del sistema de medidas, y el sistema de control encargado de enviar y recoger los datos.

El protocolo I2C (Figura 5) según [11] y [20] se trata de un bus bidireccional serie que emplea dos líneas, una de datos (SDA) y otra de reloj (SCL), que requieren de unas resistencias de *pull-up*. La línea de reloj se utiliza para sincronizar todos los datos de la línea SDA de las transferencias durante el bus I2C.

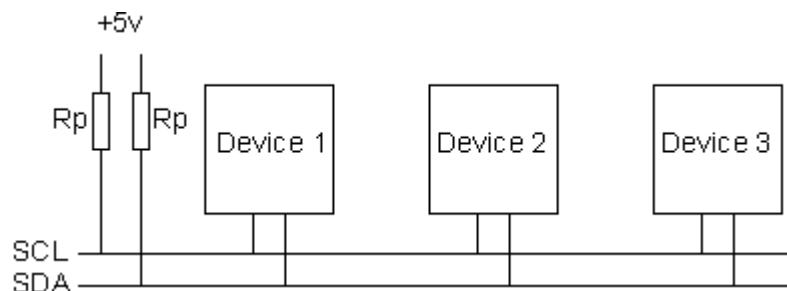


Figura 5 Esquema general de funcionamiento del protocolo I2C [11]

Las líneas SCL y SDA están conectadas a todos los dispositivos del sistema que empleen este protocolo de comunicación. Los dispositivos del bus I2C son maestros o esclavos. El maestro es siempre el dispositivo que controla la línea de reloj del sistema SCL. Los esclavos, son los dispositivos que responden al maestro. Un esclavo no puede iniciar una transferencia a través del I2C bus, sólo un maestro puede hacer esa función. Generalmente son varios esclavos en el I2C bus y un solo maestro.

En la figura 6 se expone cómo será la conexión a través del protocolo I2C del sistema que se va a construir para el potencióstato LMP9100. En el sistema la Beaglebone será el maestro de la comunicación, mientras que el resto de elementos serán los esclavos.

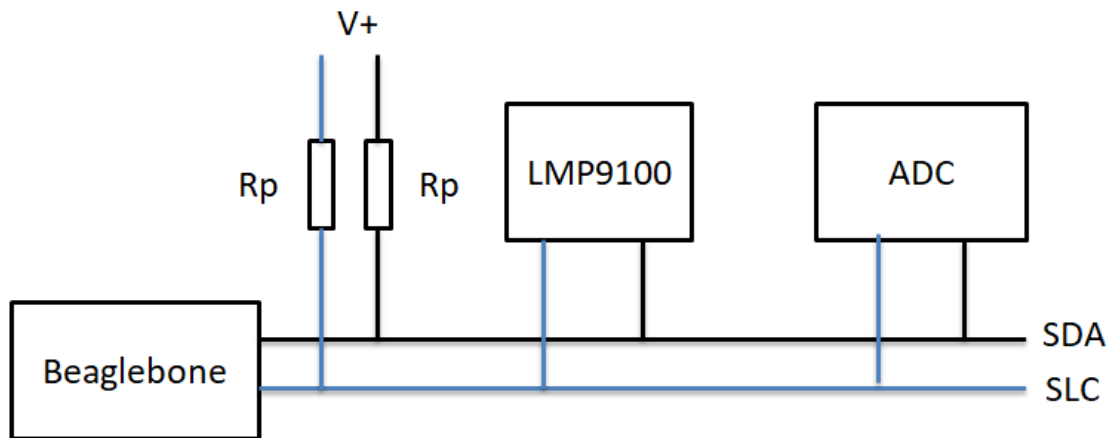


Figura 6 Funcionamiento I2C para el LMP9100

3.1 Elementos del Sistema diseñado

Para el nuevo diseño, el elemento central de todo el desarrollo es el potenciómetro comercial LMP9100 [10]. A partir de este dispositivo, se realizará el diseño de la placa PCB donde se situará junto al resto de elementos necesarios para el sistema final que se desea obtener para la realización de las pruebas.

El LMP9100 posee las siguientes características principales:

- Interfaz I2C.
- Voltaje BIAS de la celda programable.
- Aplicación para mediciones amperométricas.
- Salida analógica de la medida obtenida.
- Montaje superficial de encapsulado WSON.

El dispositivo dispone de 15 pines (Figura 7) para las diferentes entradas y salidas de datos y alimentaciones que se deben configurar para su funcionamiento de manera correcta.

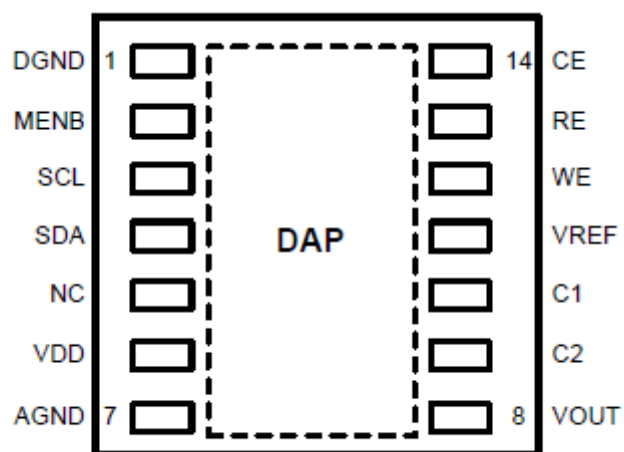


Figura 7 Esquema de pines del LMP9100 [10]

En la documentación del propio dispositivo se muestra que el dispositivo está preparado para funcionar con una celda de tres electrodos. Estos datos nos sirven de referencia para poder preparar el sistema, y realizar unas pruebas equivalentes entre los tres potenciostatos.

Este potenciostato se puede programar para otros usos y finalidades, pero la base de este trabajo es el de la celda de tres electrodos. En la figura 8 podemos observar cómo se estructura el funcionamiento del dispositivo para la celda de tres electrodos, que es el modo de funcionamiento de los tres potenciostatos del trabajo.

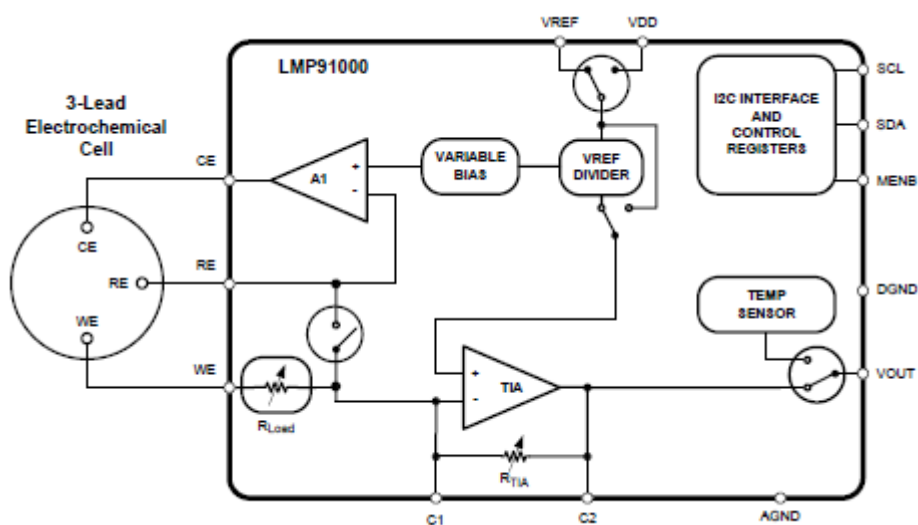


Figura 8 Esquema de componentes internos del LMP9100 [10]

En base al esquema que observamos en la figura 8, se observan las diferentes conexiones que se deben realizar en los pines del dispositivo para su uso. Como se ha expuesto en la sección 2 de este trabajo, el método empleado es la amperometría con la celda de tres electrodos.

Como la idea principal es realizar el sistema lo más similar posible al potenciostato diseñado en el HCTLab, en el pin de alimentación de referencia pondrá una tensión de 2 V igual a la empleada en este. Como alimentación del dispositivo se empleará una tensión de 3,3 V.

En los pines 12, 13 y 14 del LMP9100 irán conectados los electrodos de trabajo, referencia y auxiliar en los que se darán las reacciones que se analizarán con el sistema. Entre los pines 9 y 10 del LMP9100 se conectará un condensador ya que se ha considerado que con el potenciómetro interno del propio chip es suficiente para ajustar el sistema y asemejar las características del amplificador del sistema del HCTLab. Por el pin 8 saldrá la corriente resultante de la reacción que se está dando durante el experimento, y que más tarde se analizará para debatir los resultados.

Este sistema se controlará a través de diferentes comandos por la interfaz I2C, donde se definirá cómo debe configurarse para que aplique los diferentes potenciales y ajuste de sus componentes internos para la realización de los experimentos.

3.1.1 Componentes del circuito

Al tratarse de un dispositivo tan completo, el número de elementos adicionales para conseguir el funcionamiento deseado es muy pequeño en comparación con el número de elementos empleado por el potenciostato construido por el HCTLab.

Teniendo en cuenta lo mencionado en la sección anterior en lo relativo a la alimentación del componente principal. Primero se elegirán los componentes encargados de realizar la conversión de las tensiones de referencia que hemos definido para el nuevo potenciostato.

El REF3012 [21] se encargará de realizar la conversión a 2 V para el pin de referencia del LMP9100, mientras que el TPS73133DBVT [22] se encargará de garantizar los 3,3 V que queremos que sea la alimentación del chip.

Por otro lado, se debe realizar la conversión de la salida del LMP9100, ya que la salida es analógica y no tenemos forma de leer esa señal en nuestro sistema individualmente. Se podría hacer a través de la propia BeagleBone, pero se desea dejar toda la parte de conversión en el dispositivo nuevo. Por este motivo se emplea el ADC1114-Q1 [23] para la conversión de la señal que envía el potenciómetro de forma analógica a una señal digital que pueda ir recopilando la BeagleBone. En la figura 9 se puede observar el circuito interno del ADC elegido, y en la figura 10 los pines de los que dispone el dispositivo.

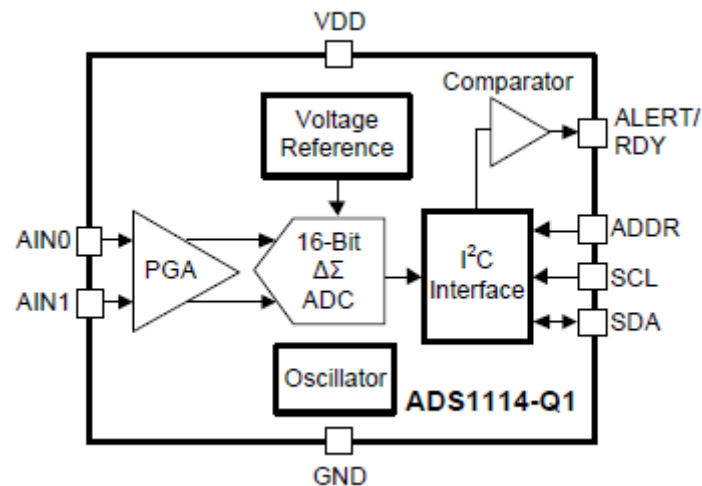


Figura 9 Esquema de componentes internos del ADS1114-Q1 [23]

Las características principales que más nos interesan de este dispositivo son:

- Cualificado para aplicaciones automáticas.
- Amplio rango de tensiones de entrada. De 2 V a 5,5 V.
- Interfaz I2C para la comunicación.
- 16 bits de resolución de la medida obtenida.
- Dispositivo de montaje superficial VSSOP.

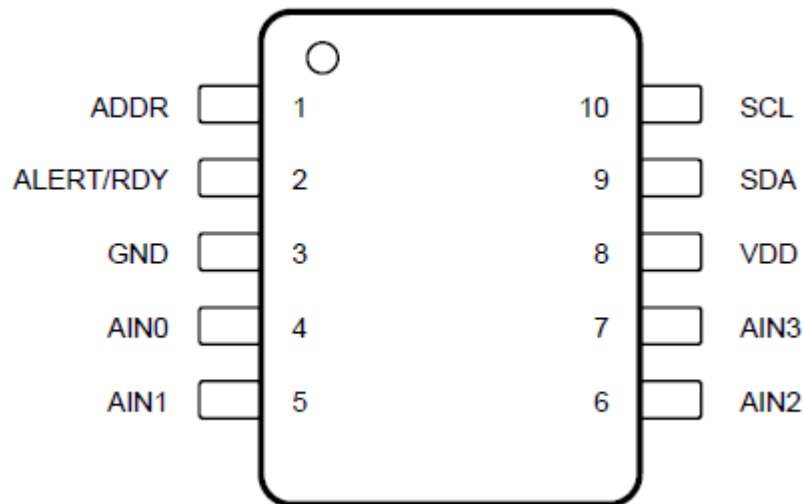


Figura 10 Pines del ADC1114-Q1 [23]

Con este dispositivo tenemos todo lo necesario para realizar la conversión de las medidas que está enviando el LMP9100 y realizar la conversión de analógico a digital para enviar la medida obtenida al sistema de control del dispositivo. Por el pin 4 del ADC entrará la señal saliente del LMP9100 para ser convertida y leída más tarde por el bus de datos.

3.1.1 Sistema de control

Para controlar los dispositivos anteriormente mencionados, es necesario disponer de un sistema capaz de controlarlos y aplicar las configuraciones que deseamos y recoger las medidas resultantes de los experimentos. Este sistema tiene que ser capaz de comunicarse con todos los elementos configurables del sistema y ser capaz de realizar la lectura de los datos que envía el mismo. Todo esto debe poder realizarse en cualquier momento del experimento.

Para realizar esta función se ha elegido como sistema de control la BeagleBone (Figura 11) [9], al igual que la que se emplea en el prototipo de Inbea. Este sistema es el mismo que emplea el potenciómetro diseñado en el HCTLab y, por lo tanto, ya está preparado para realizar la comunicación de la forma que se necesita para este sistema.

Posee todas las características necesarias para controlar los dispositivos del sistema encargado de la adquisición de medidas mediante el protocolo I2C. Así como la

posibilidad de programar sus pines para que ofrezcan diferentes salidas en función de las necesidades a la hora de diseñar el sistema de medidas para conectarlo a la placa.

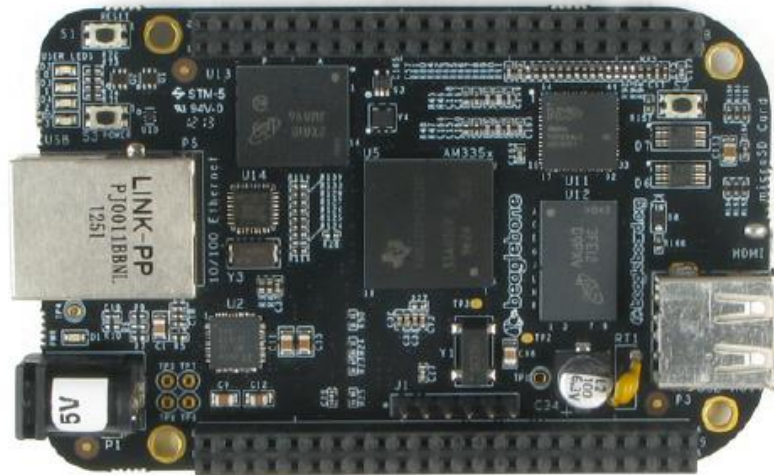


Figura 11 Sistema de control BeagleBone [9]

3.1.2 Funcionamiento del circuito

Antes de realizar el diseño de la placa PCB del sistema del potencióstato, hay que definir las conexiones de todos los componentes del circuito para evitar posibles errores durante su desarrollo y fabricación.

Partiendo del sistema de control de la BeagleBone, alimentaremos el sistema de medidas con los pines de alimentación de 5 V que este posee. Esta alimentación de 5 V será enviada a los dos dispositivos encargados de realizar las conversiones a las tensiones que se desea entregar al resto de dispositivos del sistema.

Por un lado, se enviará al dispositivo REF3012 que realizará la conversión a 2 V para enviar al pin de referencia del potencióstato LMP9100. Y, por otro lado, se enviará esta tensión de 5 V al dispositivo TPS73133DBVT que conseguirá los 3,3 V que queremos para alimentar tanto al potencióstato LMP9100, como al conversor ADC1114-Q1, así como a

las resistencias *pull up* de los canales de comunicación del protocolo I2C, las líneas SDA y SCL.

La línea de tierra se obtiene del sistema de control. Se realizará una separación de la línea de tierra entre una analógica, y una digital. Con esta división, se obtendrán los dos planos de masa diferenciados en el PCB construido finalmente. Aunque el pin de tierra sigue siendo común entre ambos planos.

Por último, tendremos los dos pines encargados de la comunicación por el protocolo I2C, la línea de datos SDA y la línea de reloj SCL, conectados tanto con el potenciómetro LMP9100, como con el conversor ADC1114-Q1. De esta forma la conexión resultante es que el sistema de control formado por la BeagleBone es el maestro de la comunicación, mientras que los otros dos dispositivos son los esclavos de esta para la realización de las diferentes comunicaciones entre ellos.

3.1.3 Diseño del circuito PCB

Con todo lo descrito anteriormente, ya se puede realizar el esquema de conexiones que tendrá nuestro sistema de medidas que queremos construir y conectar al sistema de control.

El diseño del circuito se ha realizado en la herramienta Altium Designer [24], y se ha procurado que las dimensiones del circuito sean reducidas, pese a que ello dificulta la fabricación y diseño del mismo.

Para el diseño se ha tenido en cuenta la conexión que habrá con los diferentes pines de la BeagleBone que controlará el PCB que se construirá. Para este diseño se hace uso únicamente del conector P9 de la BeagleBone (Figura 12). De esta línea de pines del sistema se pueden obtener las alimentaciones, línea de tierra y de comunicación del protocolo I2C sin necesidad de emplear ningún otro conector de la BeagleBone.

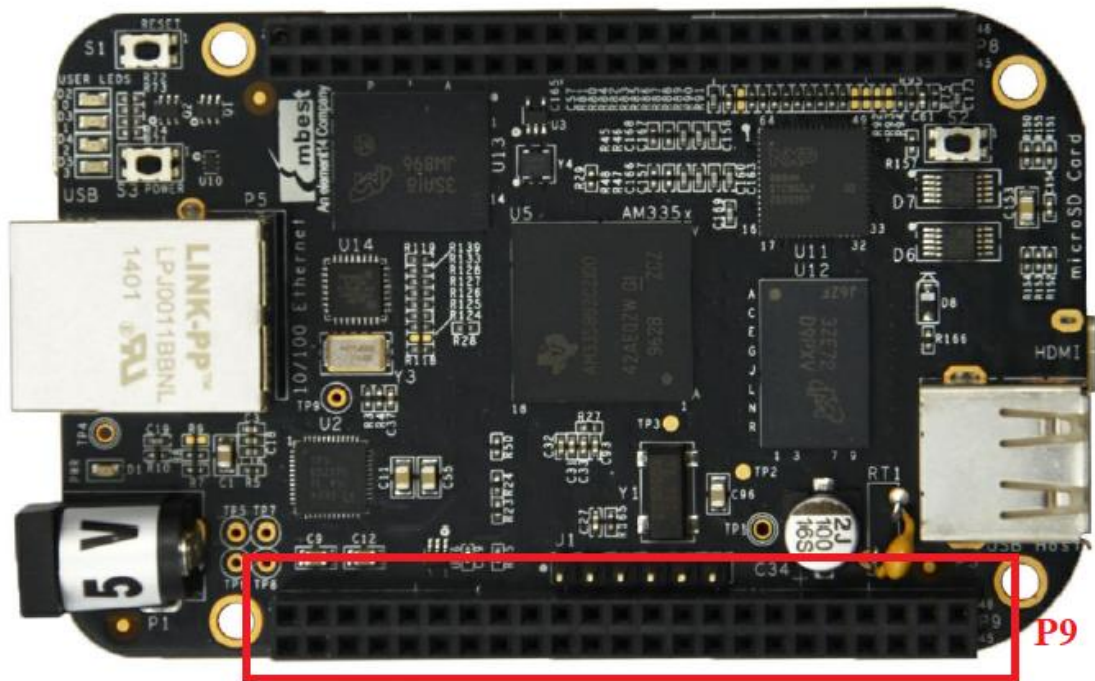


Figura 12 Línea de pine P9 de la BeagleBone [9]

Los pines empleados de la BeagleBone son los siguientes:

- Los pines 1 y 2 para la línea de tierra empleada por el PCB (GND) común a los dos planos de masa. En la PCB se realizará la división entre los planos de masa digital y analógica, separados por una resistencia de $0\ \Omega$.
- Los pines 5 y 6 que corresponden a la alimentación de 5 V que ofrece la Beaglebone para el PCB.
- El pin 18 para la línea de datos SDA.
- El pin 17 para la línea de reloj SCL.

Para realizar el diseño de las conexiones del circuito se han procurado tener en cuenta las siguientes reglas:

- Pistas de 0,4 mm con una separación de al menos 0,3 mm entre ellas siempre que sea posible. Por las dimensiones tan reducidas de algunos componentes, no es posible cumplir este requisito en todo momento.
- Condensadores de desacoplo en las alimentaciones de los distintos componentes y líneas de datos. Para eliminar la componente alterna de la tensión y mantener el régimen de corriente continua.

Por medio de la herramienta Altium Designer, ya mencionada anteriormente, se ha realizado el diseño del circuito completo. El diseño del circuito puede visualizarse en los anexos de este trabajo. El resultado final es el que se observa en las figuras 13 y 14.

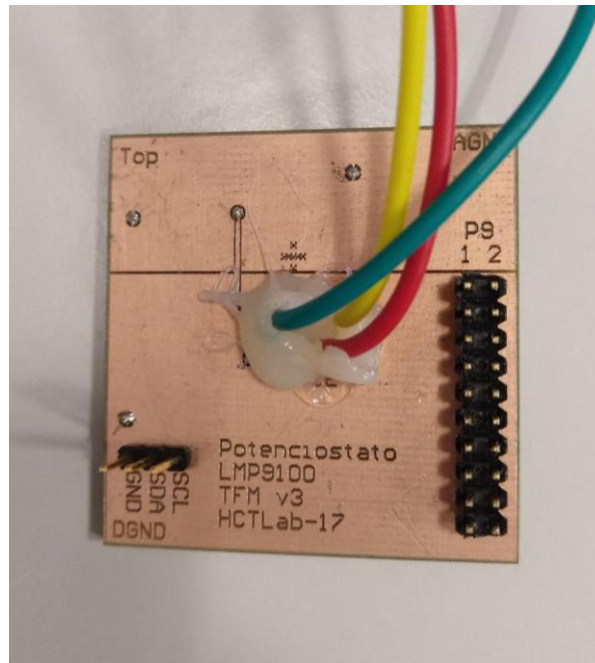


Figura 13 Vista superior del sistema para el LMP9100

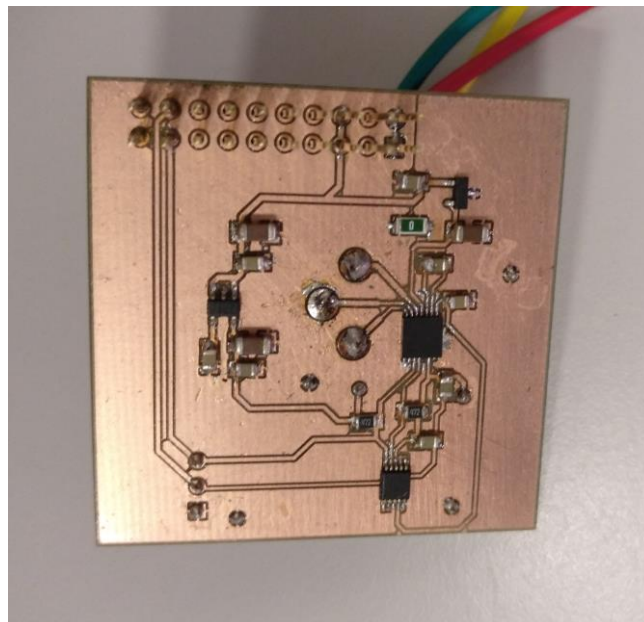


Figura 14 Vista inferior del sistema para el LMP9100

En la figura 14 se pueden observar los diferentes dispositivos que forman el sistema diseñado y construido. Con unas dimensiones de 4,5 cm de ancho y 4,3 cm de largo.

El tamaño tan reducido también se debe al menor número de componentes que se emplea en este nuevo diseño. También se puede observar cómo se ha procurado que todos los componentes del sistema fuesen de montaje superficial. Esto hace que el sistema resulte más homogéneo pese a que dificulta más su construcción debido a las características de este tipo de montaje.

En la figura 15 se puede observar la diferencia de dimensiones entre el sistema nuevo construido del LMP9100 y el sistema construido en el HCTLab. También, en la figura 15 se pone al sistema Inbea originalmente desarrollado, teniendo en esta imagen los 3 sistemas a comparar en este trabajo.

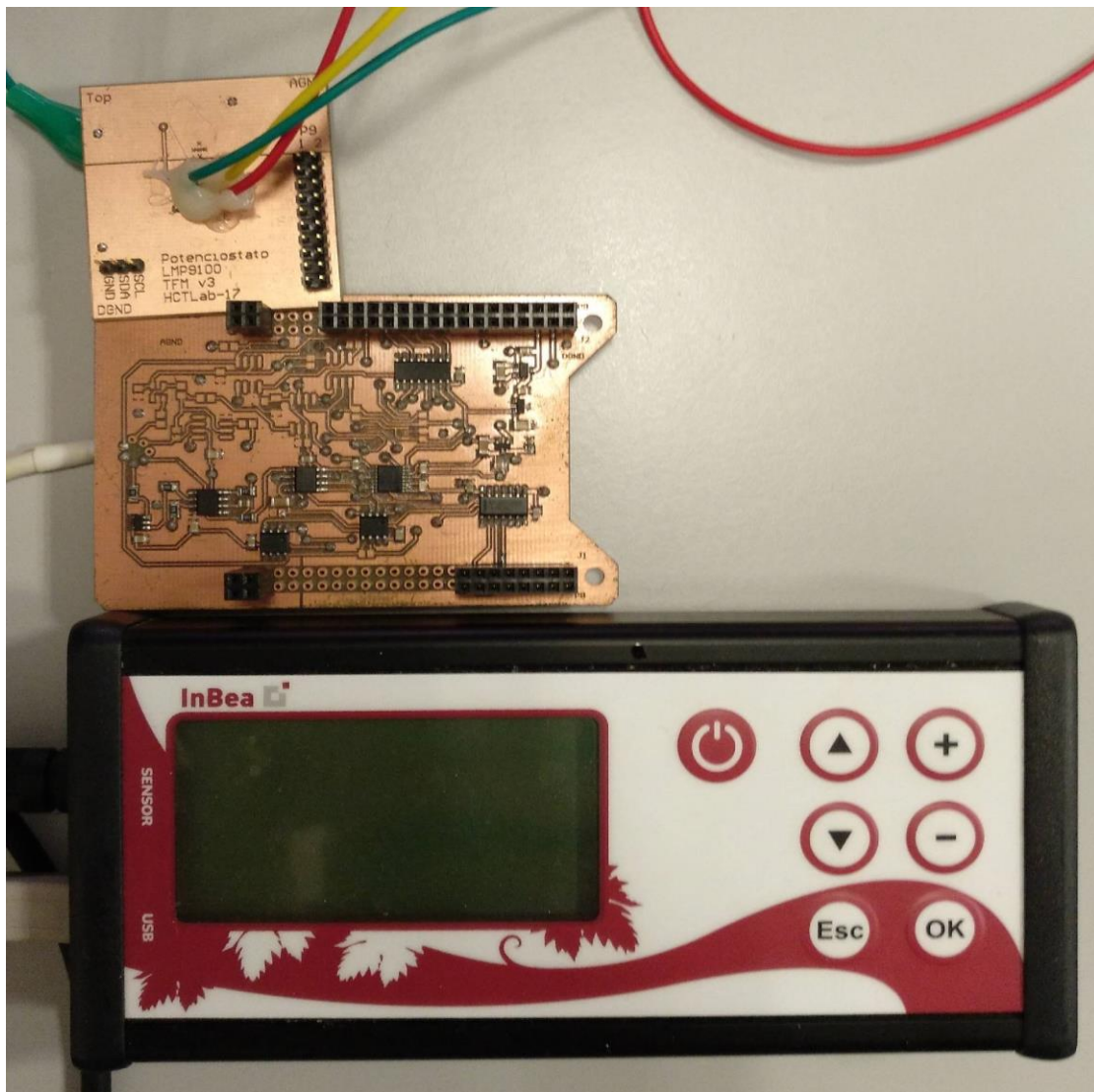


Figura 15 Los tres sistemas de potenciostatos a comparar en este trabajo. LMP9100 (Superior), Sistema del HCTLab (Medio), y Inbea (Inferior).

Con el circuito diseñado fabricado, y con todos los componentes soldados. Se han realizado las comprobaciones necesarias de que no hay ningún tipo de cortocircuito, o interferencia dada por la construcción del mismo. Con estas comprobaciones hechas, se pasa al diseño del programa que se encargará de definir los parámetros de funcionamiento de los diferentes dispositivos del sistema. Todo el proceso de diseño del software se verá en la siguiente sección del trabajo.

4 Desarrollo del Software

En esta sección del trabajo se explicará el diseño y las decisiones que se han tomado sobre el desarrollo del software que controlará el potencióstato. También, algunas modificaciones realizadas sobre el sistema del HCTLab.

4.1 Diseño del programa Software

Como ya se ha descrito anteriormente, la comunicación se realiza por medio del protocolo I2C, por lo que el programa debe ser capaz de realizar esta comunicación para el envío de instrucciones y recepción de datos. Los dispositivos del sistema que emplean este protocolo son el LMP9100, y el ADC1114-Q1. Se ha optado por realizar el programa en el lenguaje C para el control del sistema.

Para saber por qué dirección van a estar recibiendo o enviando datos cada uno de estos dos dispositivos, debemos guiarnos por sus Datasheets para saber cuál es la dirección en función de las conexiones realizadas. Se ha comprobado que el LMP9100 posee la dirección 1001000 binario o 0x48 hexadecimal, mientras que el ADC1114-Q1 posee la dirección 1001001 en binario o 0x49 hexadecimal. Una vez se sabe a qué dirección deben enviarse las instrucciones, ya sean de lectura o escritura, se configura el modo de funcionamiento de los dispositivos.

En primer lugar, se debe programar el LMP9100, para el cual, los parámetros de funcionamiento han sido los siguientes:

- Empleo de la tensión de referencia de 2 V para los electrodos
- Que mantenga una diferencia de tensión entre los electrodos de 0 V para el experimento que se va a tratar en este trabajo.
- El potenciómetro con una resistencia de 120 k Ω , similar al empleado en el potencióstato del HCTLab que usa un potenciómetro de 100 k Ω .
- El modo de funcionamiento programado es el de celda de tres electrodos. De este modo se activan las conexiones de los tres electrodos en el dispositivo.

Acto seguido, debe realizarse la programación del ADC1114-Q1 que se encargará de convertir la tensión saliente desde el LMP9100 a digital. Los parámetros de configuración para el ADC1114-Q1 se dividen en dos partes, una para realizar la conversión y otra para la lectura de la medida obtenida. Por lo tanto, los parámetros de la primera parte en la que se realizará la conversión son:

- Rango de tensión resultante de la conversión de -4 V a 4 V.
- Realización de la medida en el momento que le llega la instrucción.
- Ratio de 128 muestras por segundo.
- Se han desactivado todos los comparadores y elementos no necesarios para el experimento.

La segunda parte sería el momento de enviar la instrucción de lectura del dato en la posición de memoria para poder obtener el resultado de la tensión resultante del LMP9100 más la conversión del ADC1114-Q1. Con esto ya se tendría la tensión resultante del experimento, pero aún no tenemos el dato que deseamos observar para comparar.

Con la medida de tensión ya obtenida, se debe realizar la conversión de esta a la intensidad que ofrece el electrodo de trabajo, ya que es la medida que realmente se desea obtener. Primero se debe realizar la conversión de hexadecimal a un valor decimal y más sencillo de tratar para el análisis de las medidas. Con la conversión ya realizada, se realiza la operación inversa a la amplificación que el propio LMP realiza durante los experimentos. De esta forma se obtiene la intensidad resultante de las reacciones y estas pasan a almacenarse en un archivo para poder ser analizado y representado en cualquier momento.

Con la construcción del sistema ya completado, y el software preparado para su funcionamiento, el sistema ya está preparado para comenzar a realizar medidas de los diferentes experimentos que se quieren realizar.

4.2 Cambios en el sistema del HCTLab

El potencióstato diseñado por el HCTLab, posee su propia interfaz gráfica al igual que el Inbea. Pero para este trabajo se ha empleado la propia consola del sistema empotrado de la Beaglebone para ir ordenando la toma de medidas de los experimentos.

Por este motivo se ha tenido que modificar el software de este sistema. Para poder almacenar las medidas en un archivo para que pueda ser representado en cualquier momento del mismo modo que se hecho con el sistema diseñado para el LMP9100.

Con el software del sistema del HCTLab ya preparado para el almacenamiento de las medidas obtenidas de la celda de tres electrodos, se pueden iniciar las pruebas con este.

5 Pruebas y resultados

A continuación, en esta sección del trabajo se van a describir los experimentos realizados con los diferentes sistemas y los resultados obtenidos de los mismos. Sobre esos resultados se hará una comparación de los sistemas para ver como destaca cada uno sobre el resto en los diferentes comportamientos.

5.1 Entorno de pruebas

El entorno que se ha empleado para realizar las diferentes pruebas sobre el nuevo sistema del LMP9100, y los otros dos potenciostatos ya existentes, ha sido el HCTLab de la Universidad Autónoma de Madrid. Con la ayuda de los sistemas y componentes ya existentes en el laboratorio para la realización de los diferentes experimentos.

En el entorno de pruebas para este trabajo se encuentran los siguientes elementos:

Se poseen los tres electrodos (figura 16) necesarios para la realización de los experimentos de modelo amperométrico con una celda de tres electrodos. Para todas las pruebas se ha usado el mismo trío de electrodos de forma que las medidas sean recogidas por los mismos elementos.

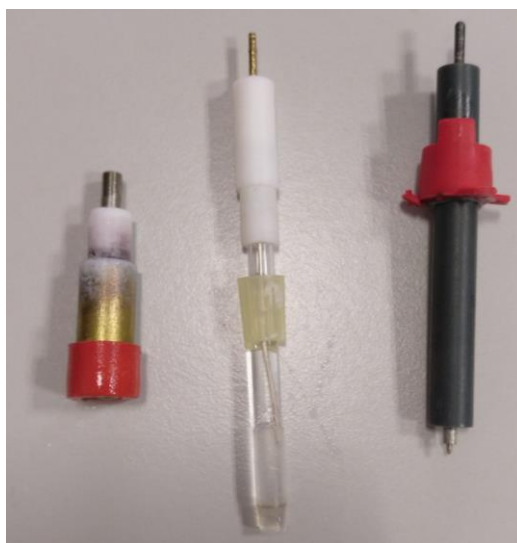


Figura 16 Electrodos de trabajo, referencia y auxiliar para las pruebas

Por otro lado, tenemos la celda de 20 ml donde añadiremos inicialmente la concentración neutra para iniciar las pruebas (figura 17).



Figura 17 Celda para los tres electrodos con la disolución neutra

La prueba que se realiza con cada uno de los sistemas consta de 2 fases principalmente. En primer lugar, se añade la disolución neutra, se activa el mezclador y se inician las medidas con el sistema de potenciostato. Una vez se observa que los valores obtenidos por el sistema están estabilizados en torno a un valor, el sistema ya está preparado para que se añada el reactivo a la mezcla y ver la reacción que se produce. El reactivo empleado se trata de una solución con un 0,002% de alcohol.

Cuando se añade el reactivo, el valor obtenido se verá afectado por este, por lo que se podrá ver una variación dependiendo del sistema y de la cantidad de reactivo que se aplique sobre el sistema. Al igual que cuando se aplica inicialmente la disolución neutra, la reacción que se produce en las medidas acabarán estabilizándose en torno a un valor. En ese momento de estabilización, se podría añadir más reactivo en caso de no haber llegado al punto de saturación del electrodo de trabajo.

A los tres sistemas que se comparan en este trabajo se les aplicará la misma cantidad de reactivo de forma que se pueda realizar una comparación de la respuesta que ofrece cada

uno. Esto se debe a que están diseñados con valores equivalentes de forma que las tensiones aplicadas sobre los electrodos y las conversiones de las medidas sean similares.

5.2 Pruebas con el sistema LMP9100

Se comienza realizando una prueba sencilla de funcionamiento del sistema del LMP9100 para comprobar que los resultados que se obtienen son concordantes con los que debería ofrecer un sistema de estas características diseñado para una celda de tres electrodos.

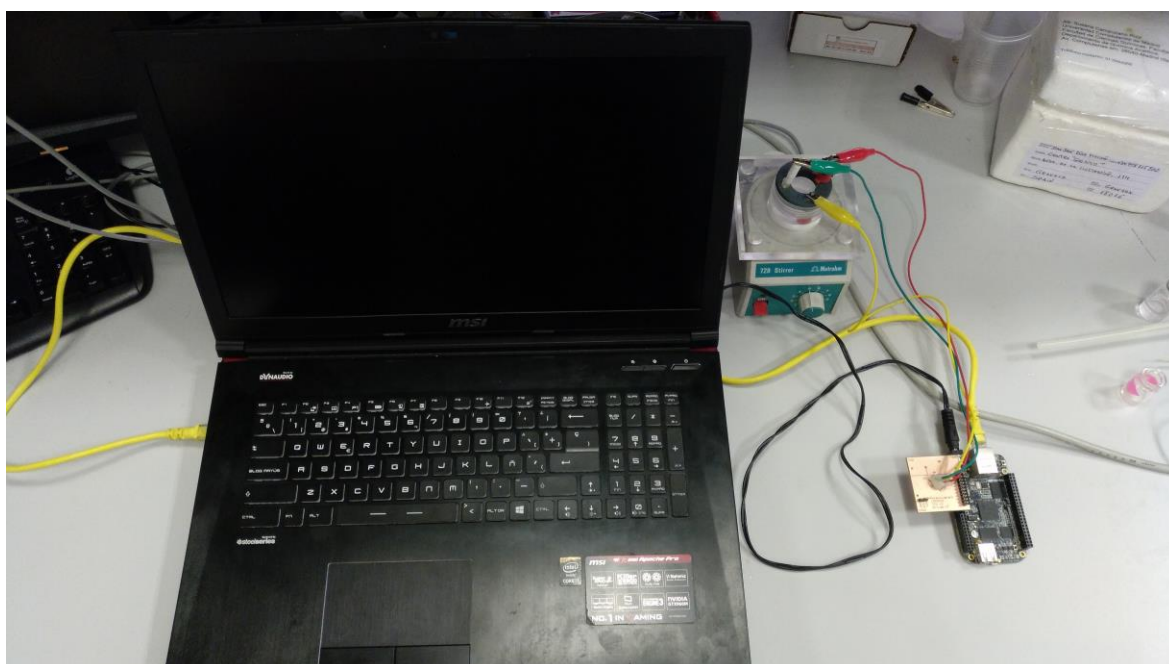


Figura 18 Sistema LMP9100 conectado a la celda y preparado para las pruebas

En una primera prueba se realiza el proceso completo, dejando que la disolución neutra se estabilice en el sistema. Una vez estabilizado, se aplica el reactivo y se observa la respuesta que ofrece el sistema hasta que vuelve a estabilizarse. En la figura 19 podemos ver la gráfica del resultado obtenido.

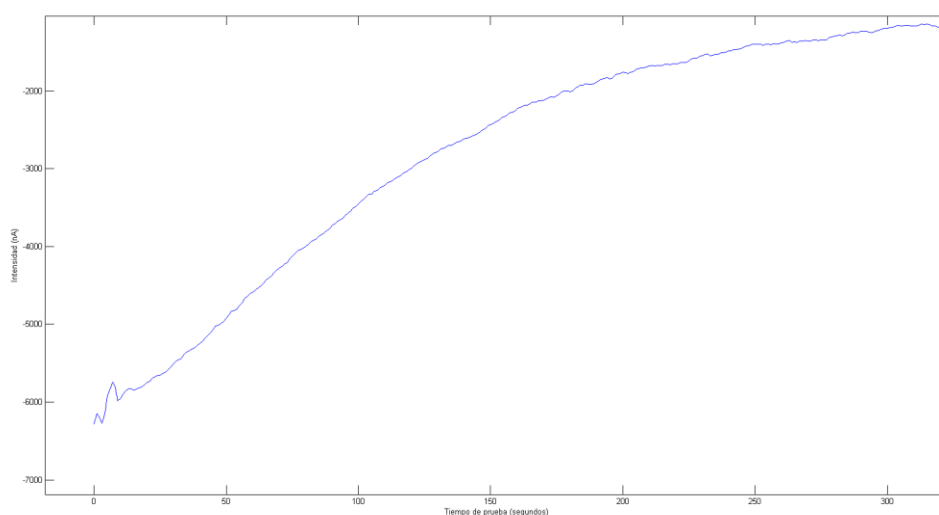


Figura 19 Estabilización del sistema LMP9100

Ampliando el resultado anterior, podemos ver como el sistema ha comenzado en un valor de unos -6200 nA y se ha ido estabilizando hasta quedarse en torno a un valor de -1138 nA. El tiempo que ha empleado el sistema en estabilizarse inicialmente ha sido de aproximadamente 315 segundos.

Estas medidas se obtienen aplicando un filtro para poder eliminar el ruido que se obtiene del sistema, ya que el resultado sería muy difícil de observar sin el filtro como se observa en la figura 20. El filtro que se ha empleado realizado para este dispositivo realiza la media de las ultimas 8 mediciones obtenidas por el sistema. Este filtro ofrece un buen resultado suavizando el resultado obtenido. Debido al extendido intervalo de tiempo en el que se realizan las pruebas, los máximos y mínimos no se ven afectados de manera significativa al igual que los tiempos de las reacciones.

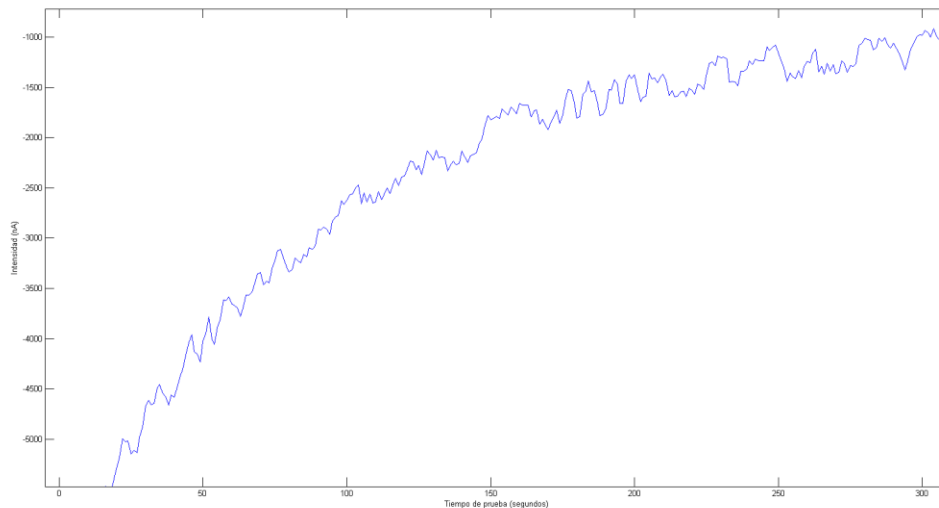


Figura 20 Estabilización del sistema LMP9100 sin filtrado

Aunque el resultado sin filtros no ayuda a poder determinar mejor el momento en el que parece que el sistema ya está estabilizado. El filtro hace que la pendiente del resultado sea menos pronunciada e incluye un ligero retardo. Pese a ello, el retardo no es significativo, y a cambio se obtiene una señal más limpia en la que se pueden realizar mejores observaciones sobre los resultados obtenidos.

Continuando, con el sistema ya estabilizado, se puede aplicar el reactivo para observar la respuesta que ofrece el sistema. En este caso se aplican 100 ul de reactivo para ver cómo reacciona el sistema. En la figura 21 se observa como el sistema ha pasado de -1138 nA y ha descendido hasta -3809 nA que es el momento en que se ha vuelto a estabilizar. El tiempo que el sistema ha necesitado para esta reacción ha sido de 200 segundos.

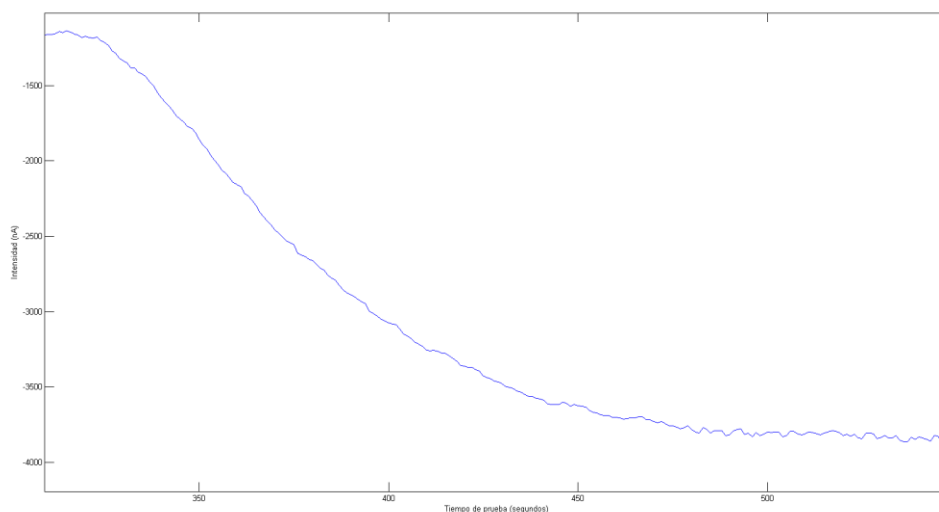


Figura 21 Respuesta del LMP9100 ante 100 ul

Si comparamos de nuevo con el mismo resultado sin filtrar de la figura 22, se puede observar que hemos vuelto a obtener una pendiente menos pronunciada, pero mucho más estable. En el resultado sin filtrar se observa que el ruido que presenta es considerablemente alto con una variación de hasta 300 nA entre algunas medidas. Este hecho justifica en mayor medida el uso de un filtrado software para poder mitigar este problema, pese a que ello suponga un retardo en la respuesta observada.

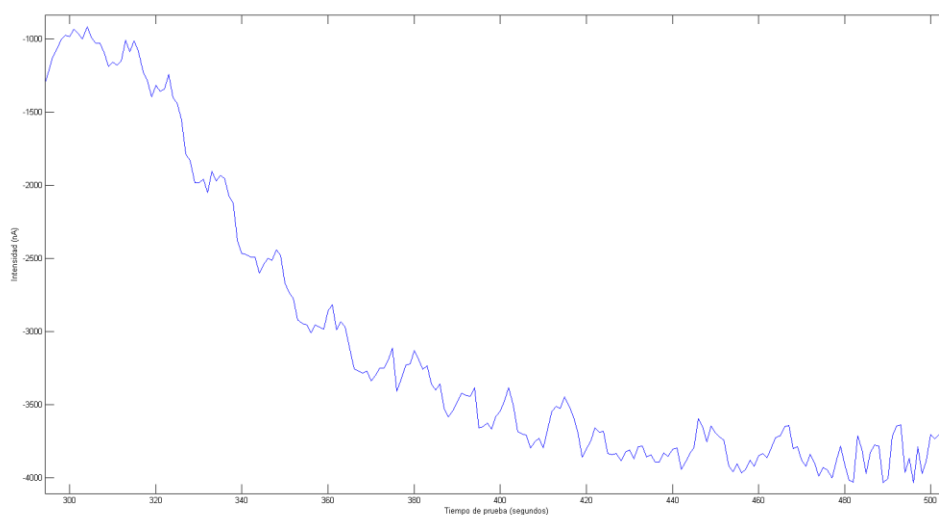


Figura 22 Respuesta del LMP ante 100 ul sin filtrar

Sobre la misma medida, aplicamos de nuevo el reactivo para comprobar cómo sigue reaccionando el sistema. En este caso, no ha sido tan amplia como la anterior, ha pasado de -3810 nA a -4280 nA en 120 segundos. Esto se debe a que el sensor ha llegado a su punto de saturación en el que ya no se ve afectado por más cantidades de reactivo que se apliquen, luego éste sería el límite del sistema. En la figura 23 se puede observar el resultado global.

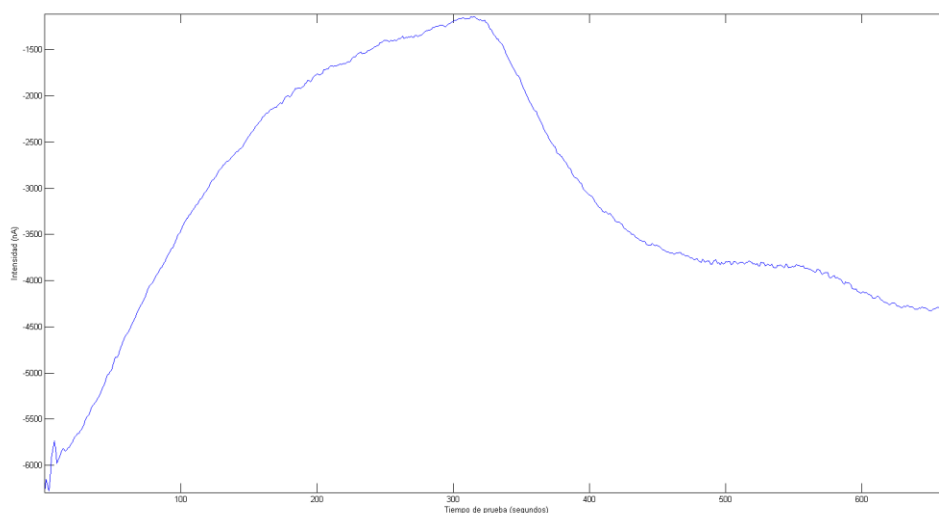


Figura 23 Respuesta del LMP9100 en toda la primera prueba

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos en esta primera prueba:

Aplicación(100 ul)	Valor inicial(nA)	Valor final(nA)	Tiempo(s)	Amplitud(nA)
1º	-1138	-3809	200	2671
2º	-3809	-4280(Sat)	120	470

Para una segunda prueba, primero se limpia la celda y se vuelve a poner la solución neutra en ella para poder realizar más medidas. Se vuelve a conectar el sistema y se espera a que se vuelva a estabilizar en torno a un valor estable y la pendiente de la gráfica resultante no sea muy pronunciada. En la figura 24 se observa que esta vez el tiempo que ha necesitado hasta estar estabilizado ha sido de 317 segundos en -890 nA.

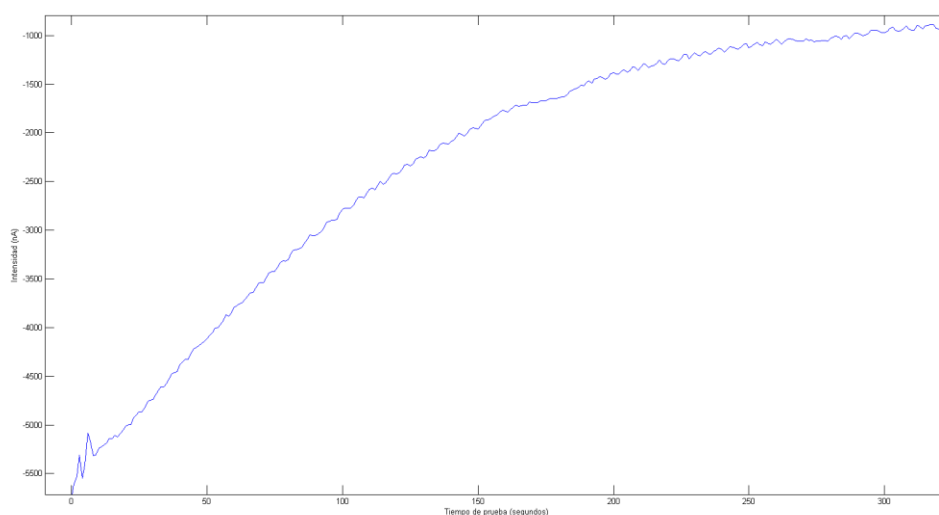


Figura 24 Estabilización del sistema LMP9100 en la segunda prueba

Con el sistema estabilizado de nuevo, esta vez se aplican 50 ul de reactivo. En la figura 25 se puede observar como el resultado de aplicar 50 ul ha sido pasar de -890 nA a -2370 nA en un intervalo de 220 segundos.

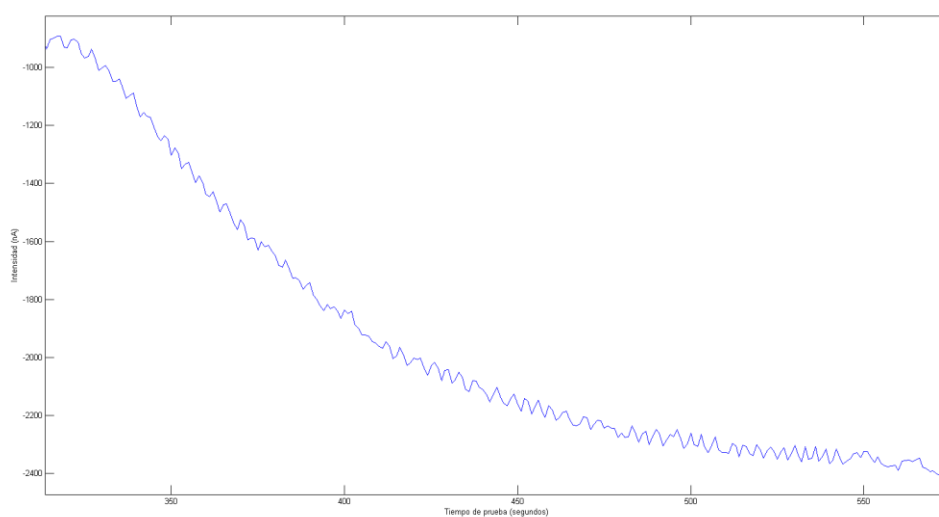


Figura 25 Respuesta LMP9100 a 50 ul

En este caso, si volvemos a eliminar el filtrado realizado para evitar el ruido producido en las medidas. En la figura 26 se puede observar el resultado habiendo eliminado el filtrado por software, observando un ruido considerable en comparación con la filtrada.

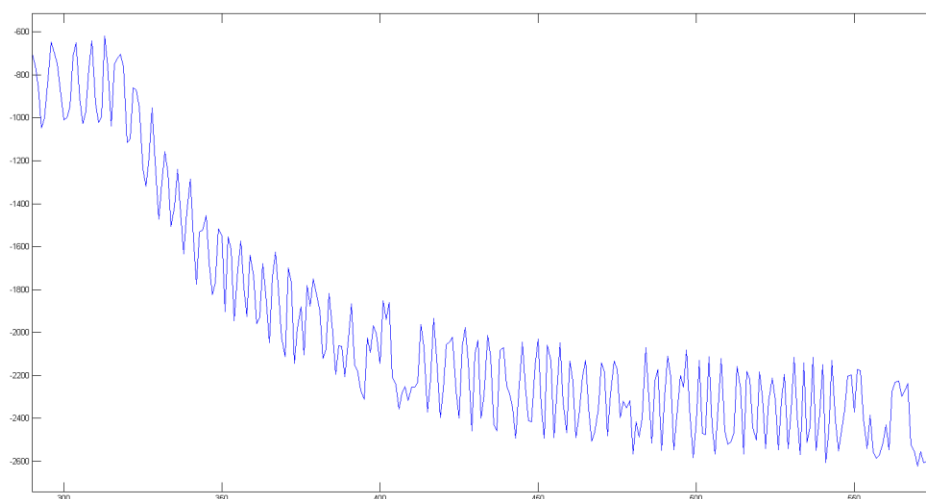


Figura 26 Respuesta del sistema LMP9100 a 50 ul sin filtrado

Continuando con esta prueba, tras aplicar la primera cantidad de reactivo de 50 ul y con el sistema ya estabilizado, se vuelve a aplicar la misma medida de reactivo. El resultado obtenido de esta segunda aplicación es el que se observa en la figura 27. El sistema ha pasado de -2340 nA a -3690 nA en 150 segundos.

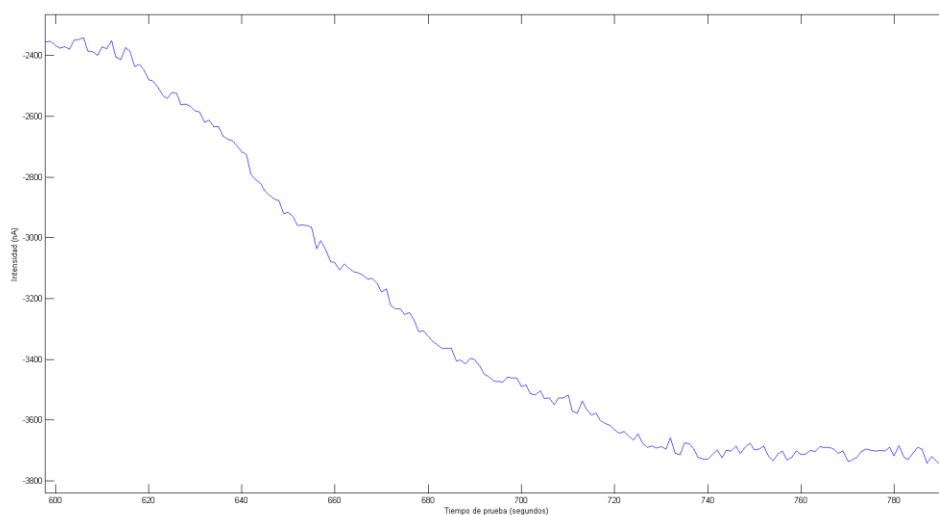


Figura 27 Respuesta del LMP9100 a una segunda aplicación

Este mismo proceso se vuelve a aplicar hasta que se observe que el sensor ha llegado a su punto de saturación en -4100 nA en el que ya no es capaz de reaccionar ante más aplicaciones del reactivo. Llegados a este punto, el sistema ya no puede ofrecer más respuesta ante el reactivo que se aplica.

En la figura 28 se observa como el sistema en total ha pasado de -890 nA a -4100 nA hasta que el sensor ha llegado a su punto de saturación. El retardo que provoca el filtrado software no se puede considerar demasiado perjudicial para el sistema ya que mejora mucho la visualización y comprensión de los resultados de este potenciostato.

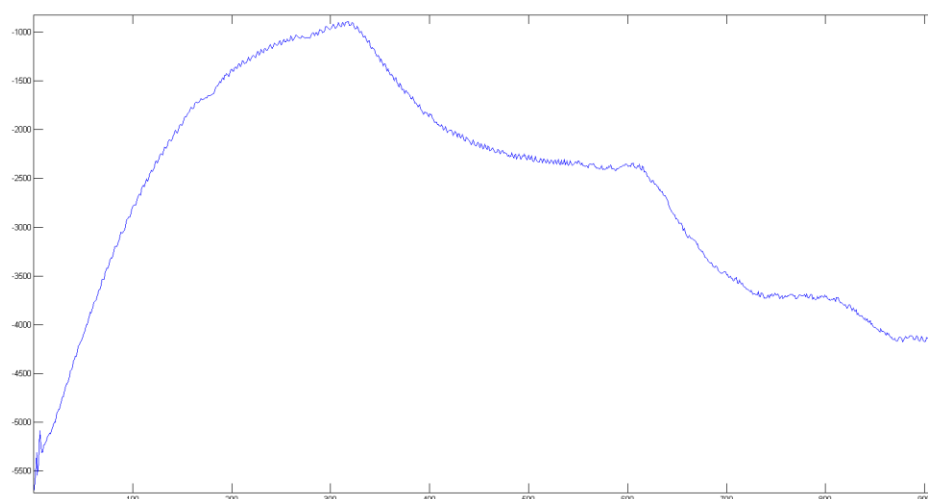


Figura 28 Respuesta del LMP9100 en todo el experimento

En la siguiente tabla se muestran los resultados de esta segunda prueba:

Aplicación(50 ul)	Valor inicial(nA)	Valor final(nA)	Tiempo(s)	Amplitud(nA)
1º	-890	-2370	220	1480
2º	-2340	-3690	150	1350
3º	-3690	-4100(Sat)	80	410

5.3 Pruebas con el potencióstato del HCTLab

Continuando las pruebas a realizar, se comprueba que resultados ofrece el sistema diseñado en el HCTLab para poder compararlo con los resultados obtenidos con el LMP9100. Para ello, se han empleado los mismos sensores, y se han aplicado las mismas cantidades de reactivo para ver qué respuesta ofrece cada uno.

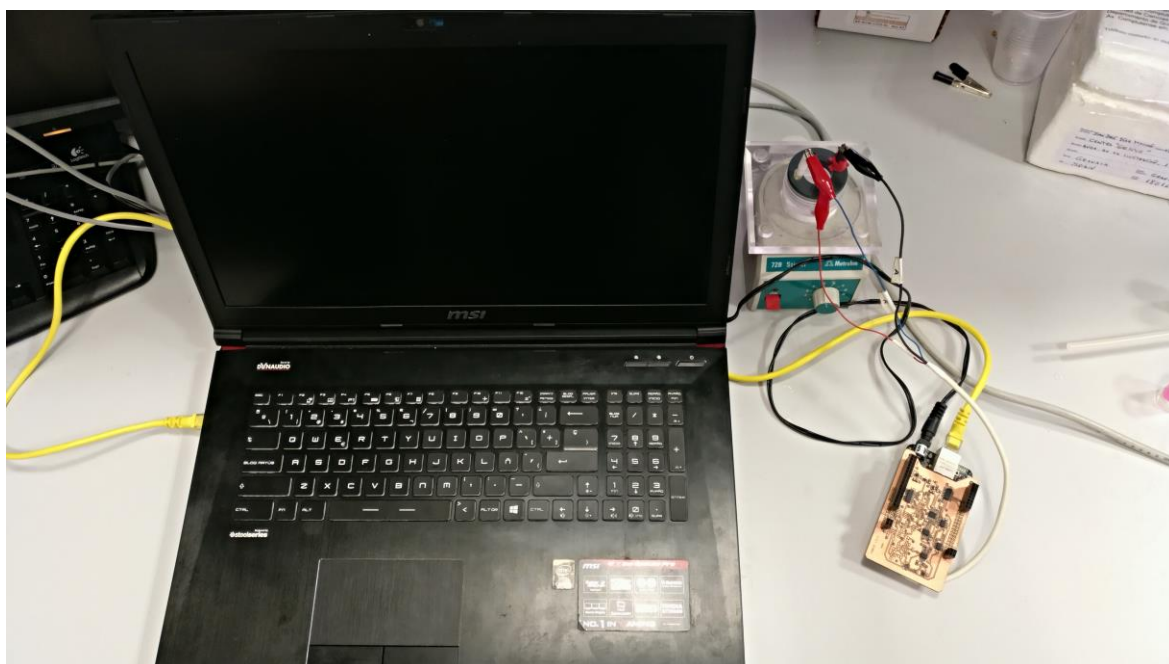


Figura 29 Sistema del HCTLab conectado a la celda de 3 electrodos y preparado para las pruebas

Al igual que con el LMP9100, primero se prepara la celda de 3 electrodos con la solución neutra y se arranca el sistema para que se estabilice. En la figura 30 se observa como el sistema se ha estabilizado en torno a -674 nA en 430 segundos.

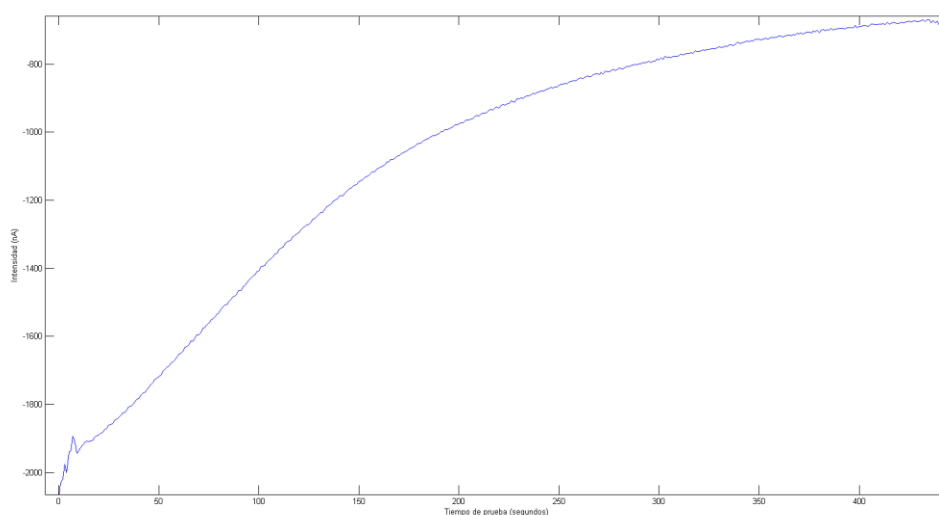


Figura 30 Estabilización del sistema del HCTLab

Con el sistema estabilizado aplicamos 100 μ l de reactivo para comprobar la respuesta del sistema. En este caso, en la figura 31, se puede observar cómo pasa de -670 nA a -1410 nA en 230 segundos.

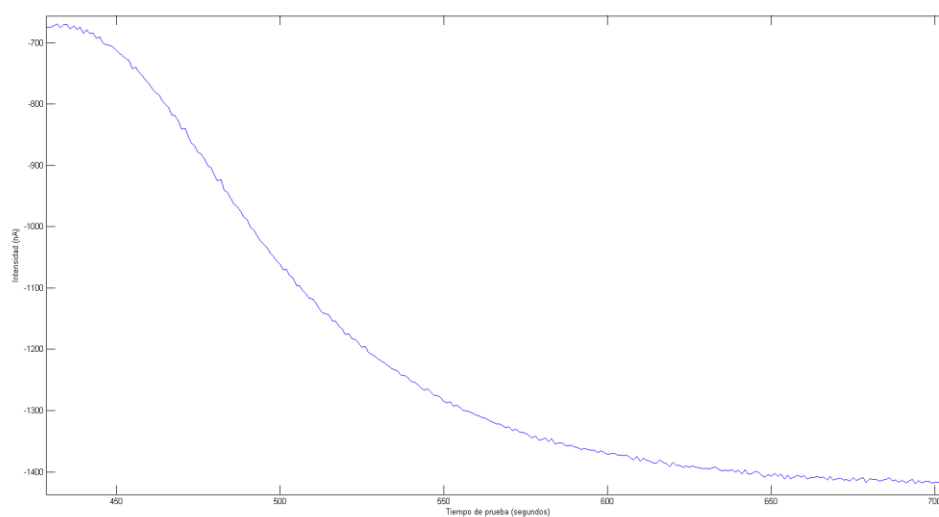


Figura 31 Respuesta del sistema del HCTLab a 100 μ l

En este caso también se está aplicando un filtrado software sobre la medida obtenida ya que el resultado sin filtrar sería el que se observa en la figura 32. El ruido no es tan pronunciado pero el filtro ayuda a estabilizar la señal.

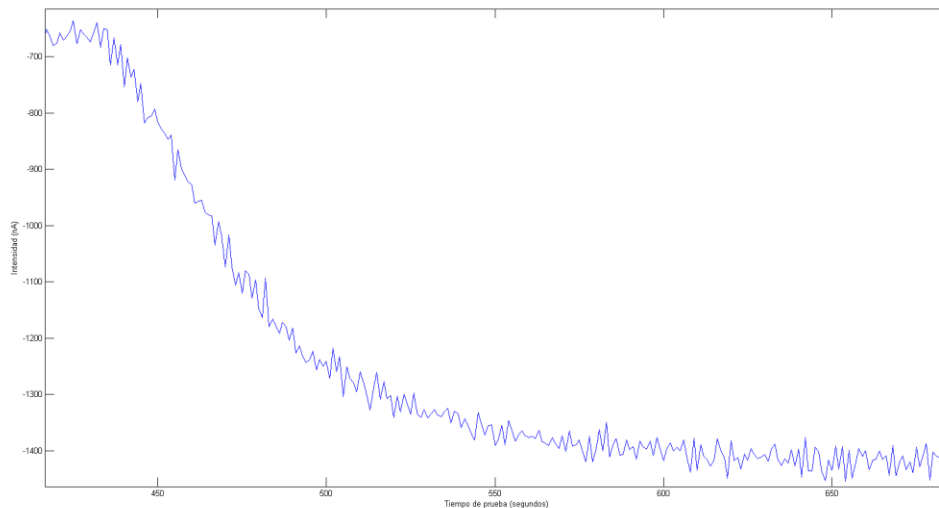


Figura 32 Respuesta sistema HCTLab sin filtro

Con el sistema estabilizado de nuevo, se vuelve a aplicar 100 μ l de reactivo. Al igual que con el LMP9100, el sensor llega a su punto de saturación ofreciendo una respuesta menor y sin reaccionar ante más aplicaciones del reactivo. En este caso la señal se ha saturado en -1777 nA a los que ha llegado en 100 segundos, desde los -1418 nA que se inició como se puede ver en la figura 33.

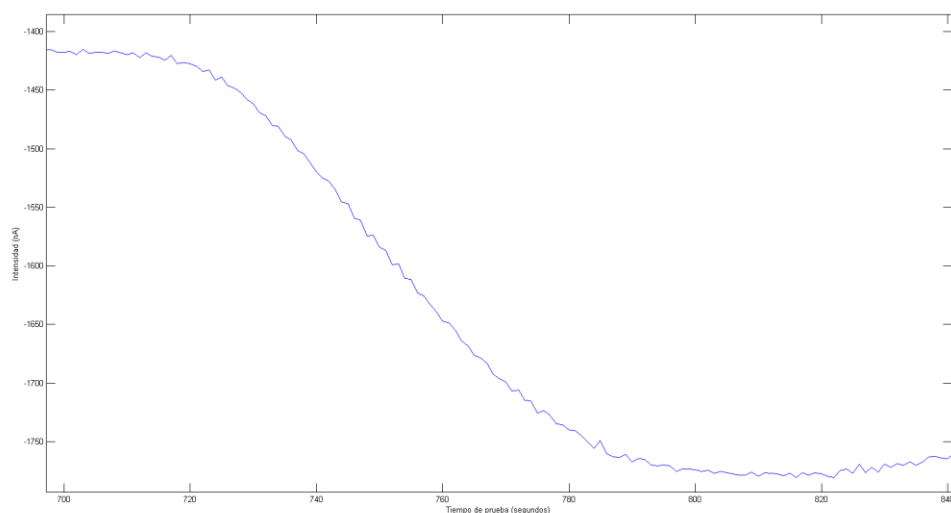


Figura 33 Segunda respuesta del sistema del HCTLab a 100 μ l

En la figura 34 se puede observar el resultado global de la prueba realizada.

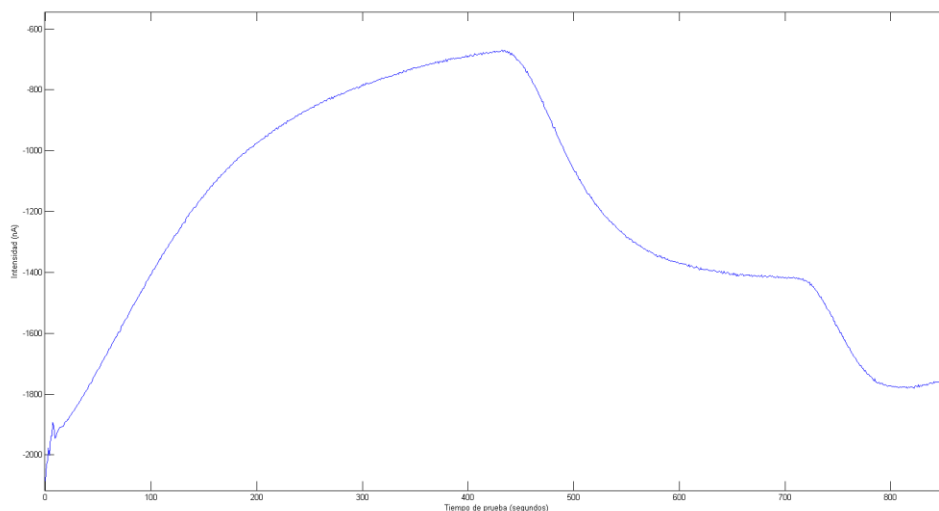


Figura 34 Reacción total del sistema del HCTLab a la prueba

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos en esta primera prueba:

Aplicación(100 ul)	Valor inicial(nA)	Valor final(nA)	Tiempo(s)	Amplitud(nA)
1°	-670	-1410	230	740
2°	-1418	-1777(Sat)	100	359

Continuando con las pruebas como con el LMP9100, se va a aplicar 50 ul de reactivo en un nuevo proceso de medidas para ver cómo reacciona el sistema del HCTLab. Para ello se vuelve a limpiar la celda y se inicia el proceso de estabilización que se observa en la figura 35. Se ha estabilizado en -490 nA en 320 segundos.

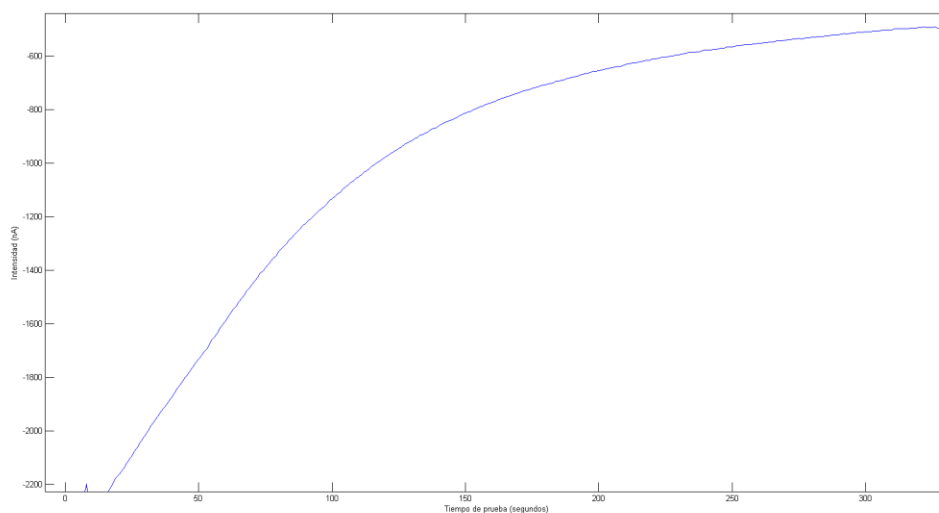


Figura 35 Estabilización del sistema HCTLab

Con el sistema estabilizado aplicamos la primera cantidad de reactivo de 50 ul. Para esta cantidad el sistema ha pasado de -490 nA a -1184 nA en 220 segundos. En la figura 36 se puede observar la respuesta ofrecida por el sistema.

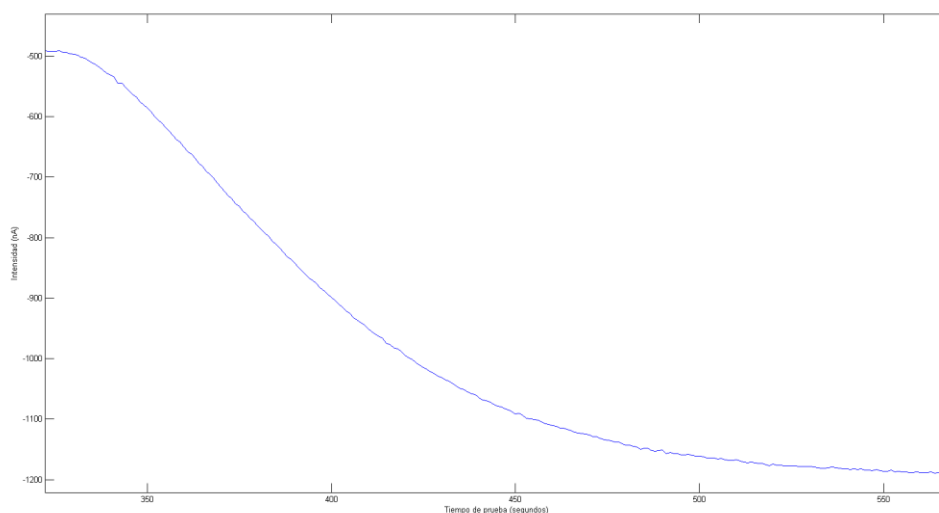


Figura 36 Respuesta del sistema del HCTLab a 50 ul

Con el sistema de nuevo estabilizado, se continúa aplicando 50 ul de reactivo, hasta que el sistema no sea capaz de reaccionar. En la figura 37 se observa la respuesta a la segunda aplicación, en la que ha pasado de -1189 nA a -1596 nA en 160 segundos.

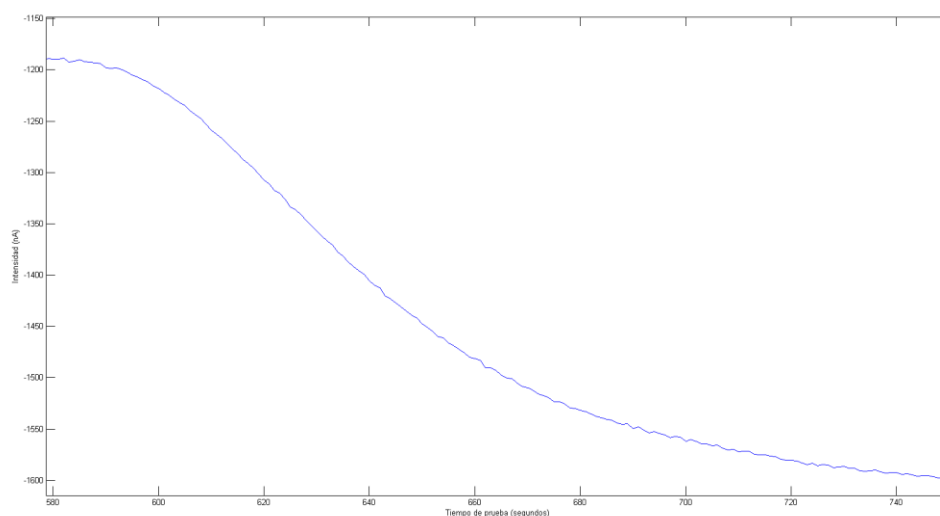


Figura 37 Segunda aplicación de 50 ul en el sistema del HCTLab

Se consigue hacer una prueba más en la que pasa de -1598 nA a -1947 nA en 130 segundos como se puede observar en la figura 38.

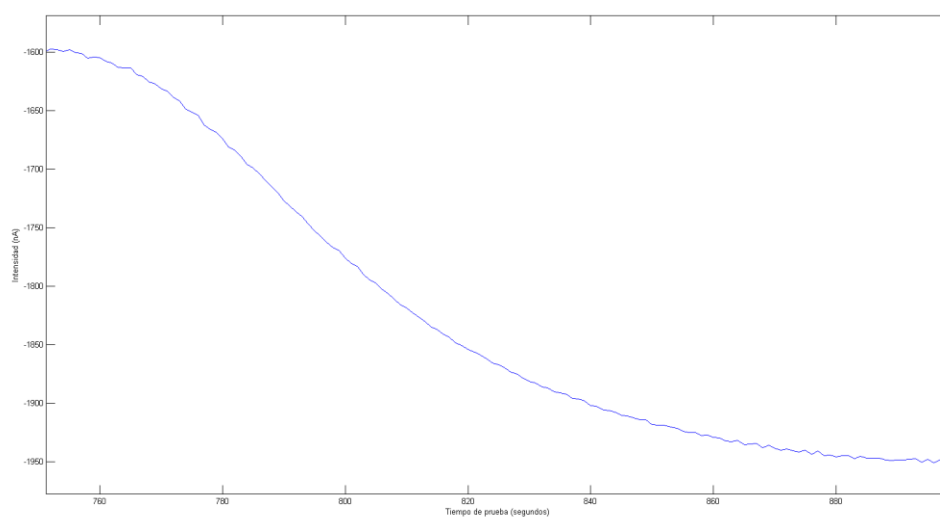


Figura 38 Tercera aplicación de 50 ul en el sistema del HCTLab

En la figura 39 se observa el desarrollo global de la prueba. En ella se aprecia un último intento de aplicar otra muestra del reactivo, pero el sensor nuevamente llega a su saturación en -2000 nA.

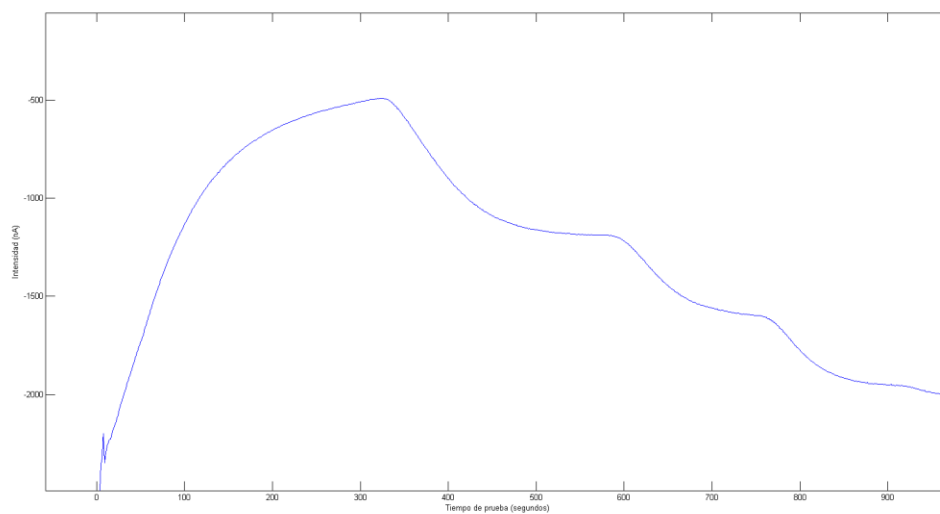


Figura 39 Respuesta de toda la segunda prueba del sistema del HCTLab

En la siguiente tabla se muestran los resultados de esta segunda prueba:

Aplicación(50 ul)	Valor inicial(nA)	Valor final(nA)	Tiempo(s)	Amplitud(nA)
1°	-490	-1184	220	694
2°	-1189	-1596	160	407
3°	-1598	-1947	130	349

5.4 Pruebas con el sistema Inbea

El último sistema con el que se realizarán las pruebas este trabajo es el sistema Inbea. Al igual que con el sistema LMP9100 y el construido en el HCTLab, se ha realizado una preparación inicial de la celda para que esté preparada para recibir aplicaciones del reactivo.

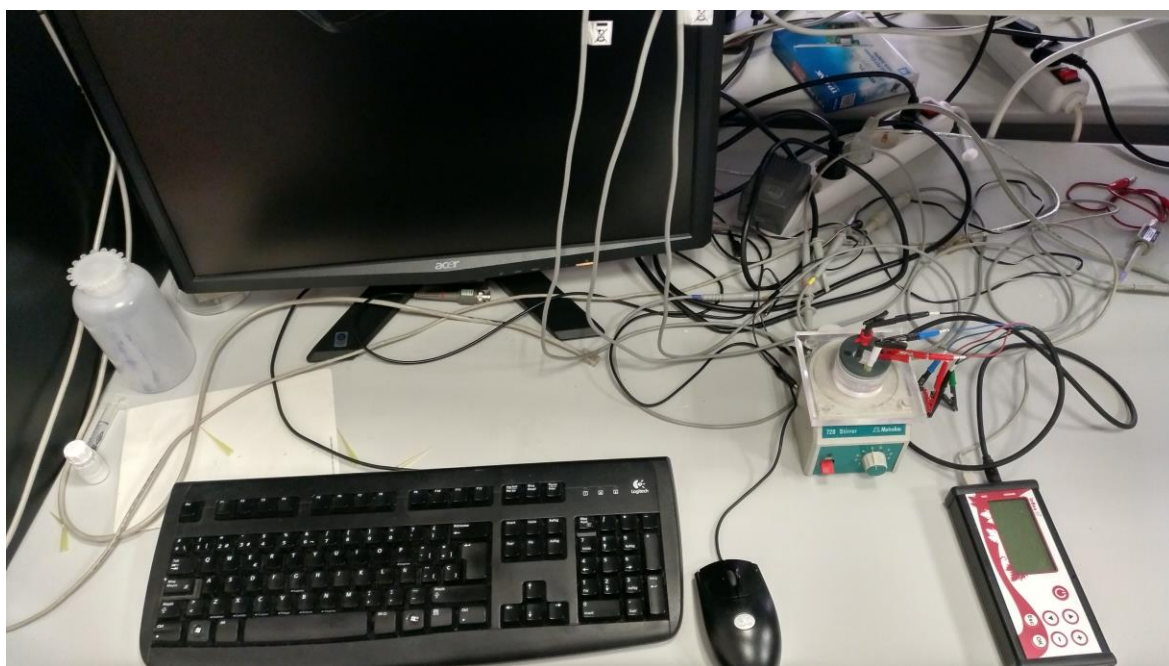


Figura 40 Sistema Inbea conectado a la celda y preparado para las pruebas

En la figura 41 se observa la adaptación del sistema en -600 nA en 240 segundos. En el caso de este sistema, no se está aplicando ningún filtro software de los que permite su interfaz, y tampoco se ve necesario en base a los resultados ofrecidos.

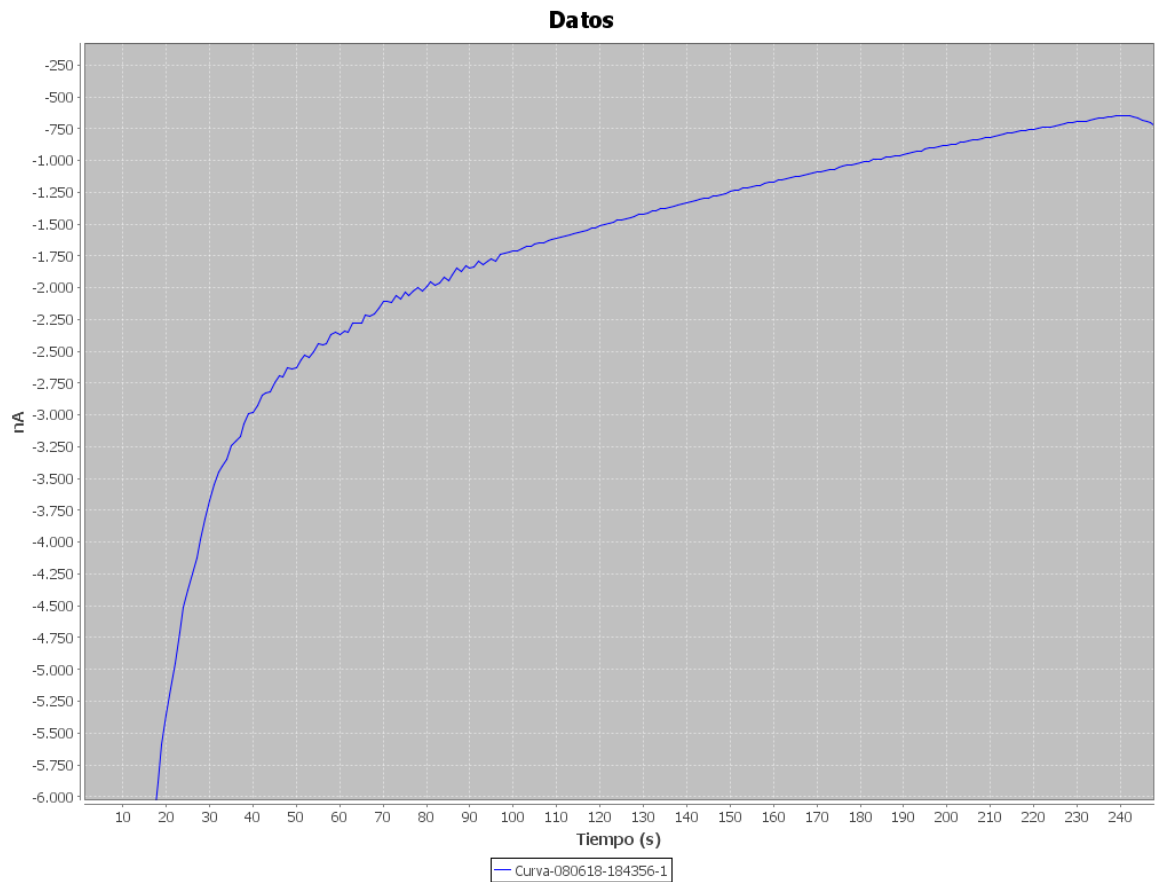


Figura 41 Estabilización inicial del Sistema Inbea

Con el sistema ya estabilizado se aplican los 100 μ l de reactivo para poder observar la respuesta que ofrece el sistema ante esta primera aplicación. En la figura 42 se observa como el sistema ha pasado de -600 nA a -2490 nA en 120 segundos que se ha estabilizado.

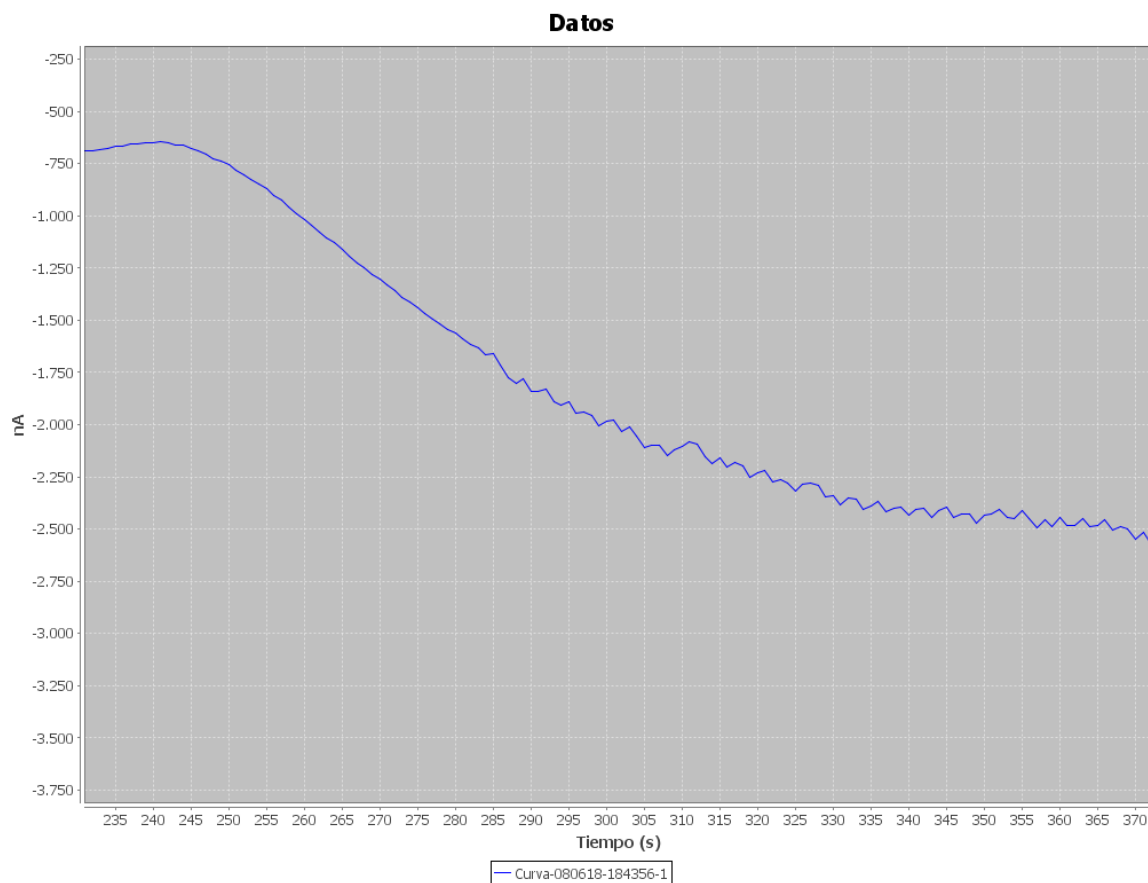


Figura 42 Respuesta a 100 ul del sistema Inbea

Con el sistema nuevamente estabilizado, se puede volver a aplicar otra muestra de reactivo. Al aplicar otra muestra de 100 ul se observa como el sistema pasa de -2500 nA a -3100 nA en X segundos. En la figura 43 se puede visualizar el resultado de esta segunda operación.

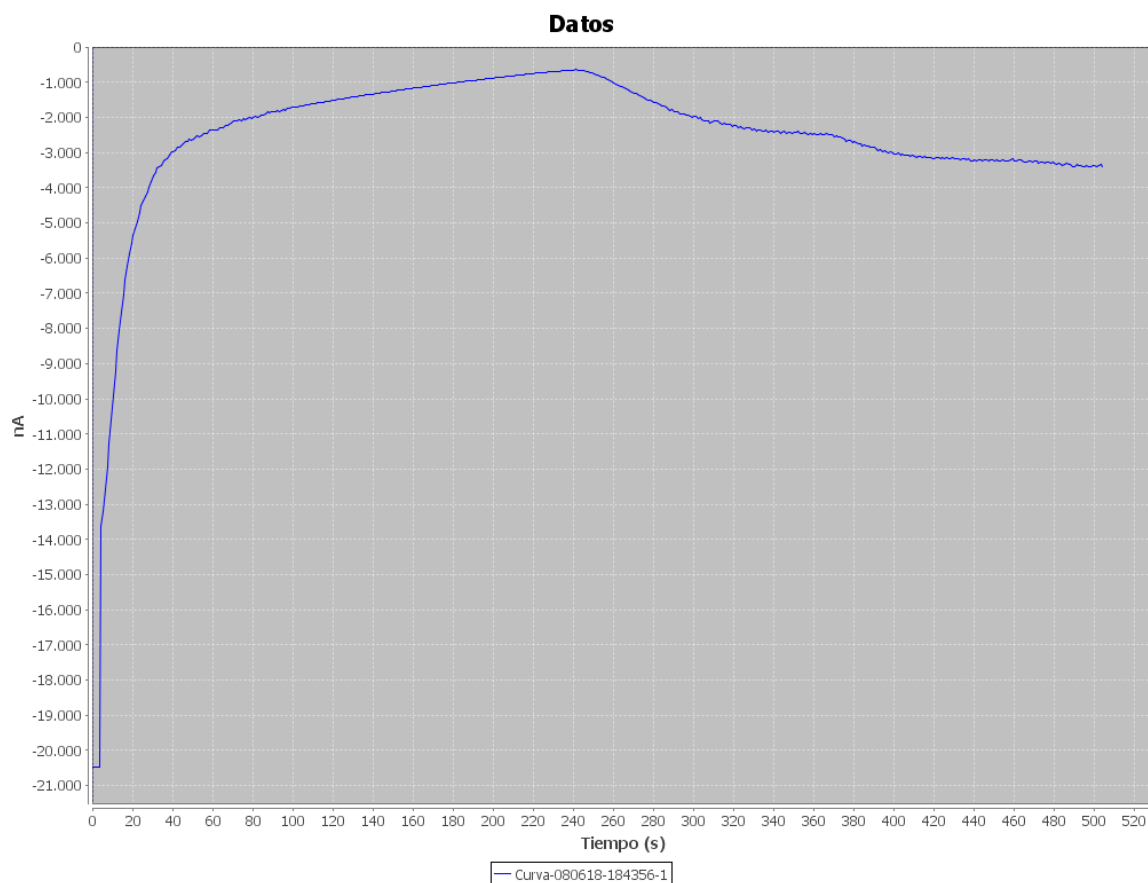


Figura 43 Respuesta global de la primera prueba del sistema Inbea

Al aplicar más muestras de reactivo, el sistema llega a su límite en -3300 nA, ya que nuevamente el sensor ha llegado al punto de saturación en el que no se ve afectado. Esto puede observarse en la figura 43.

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos en esta primera prueba:

Aplicación(100 ul)	Valor inicial(nA)	Valor final(nA)	Tiempo(s)	Amplitud(nA)
1°	-600	-2490	120	1890
2°	-2500	-3100	70	600

Al pasar a aplicar una cantidad menor de reactivo, la respuesta ofrecida por el sistema es menor que con la aplicación de una mayor concentración. En la figura 44 se observa el momento en el que el sistema se estabiliza para esta nueva prueba en -540 nA en unos 270 segundos.

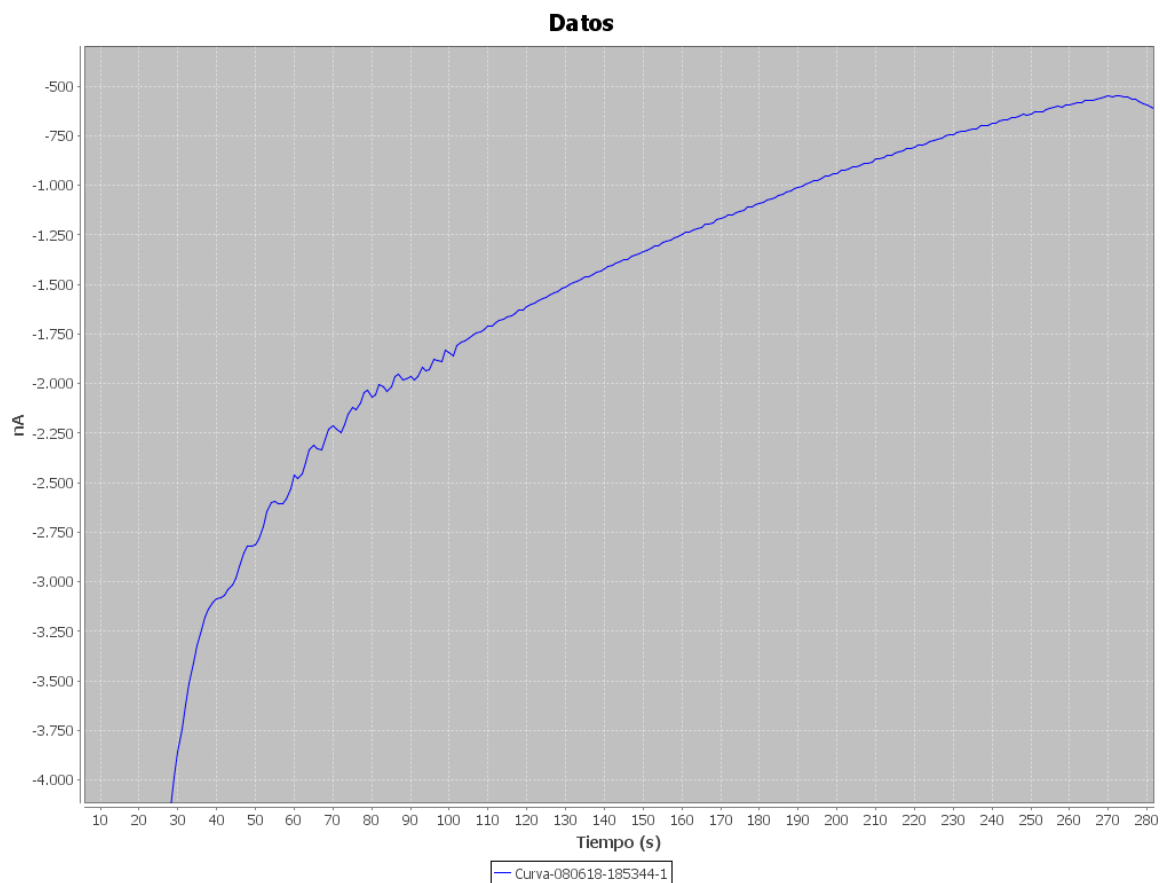


Figura 44 Estabilización del sistema Inbea para la segunda prueba

Una vez estabilizado, se aplican 50 μ l de reactivo para comprobar la nueva respuesta que ofrece el sistema. En la figura 45 se observa la reacción ofrecida por el sistema, en la que pasa de -540 nA a -1600 nA en 120 segundos.

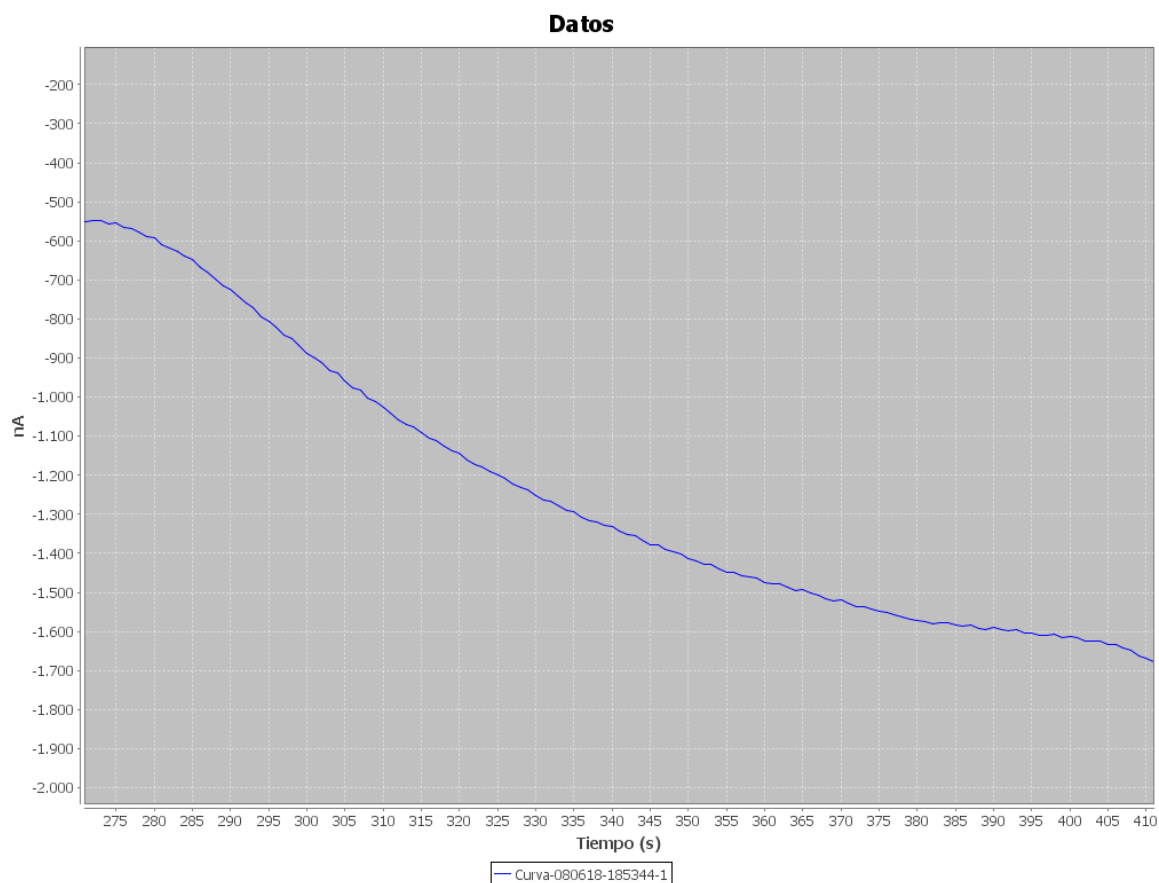


Figura 45 Respuesta a 50 ul del sistema Inbea

Al aplicar más muestras del reactivo, el sistema sigue reaccionando pasando de -1600 nA a -2500 nA en la segunda aplicación y de -2500 nA a -3000 nA en la tercera. En esta tercera aplicación el sensor ha vuelto a llegar a su límite, por lo que la reacción del sistema no ofrece más respuestas ante más aplicaciones de reactivo. En la figura 46 se puede observar el resultado ofrecido por el sistema a las diferentes aplicaciones de reactivo.

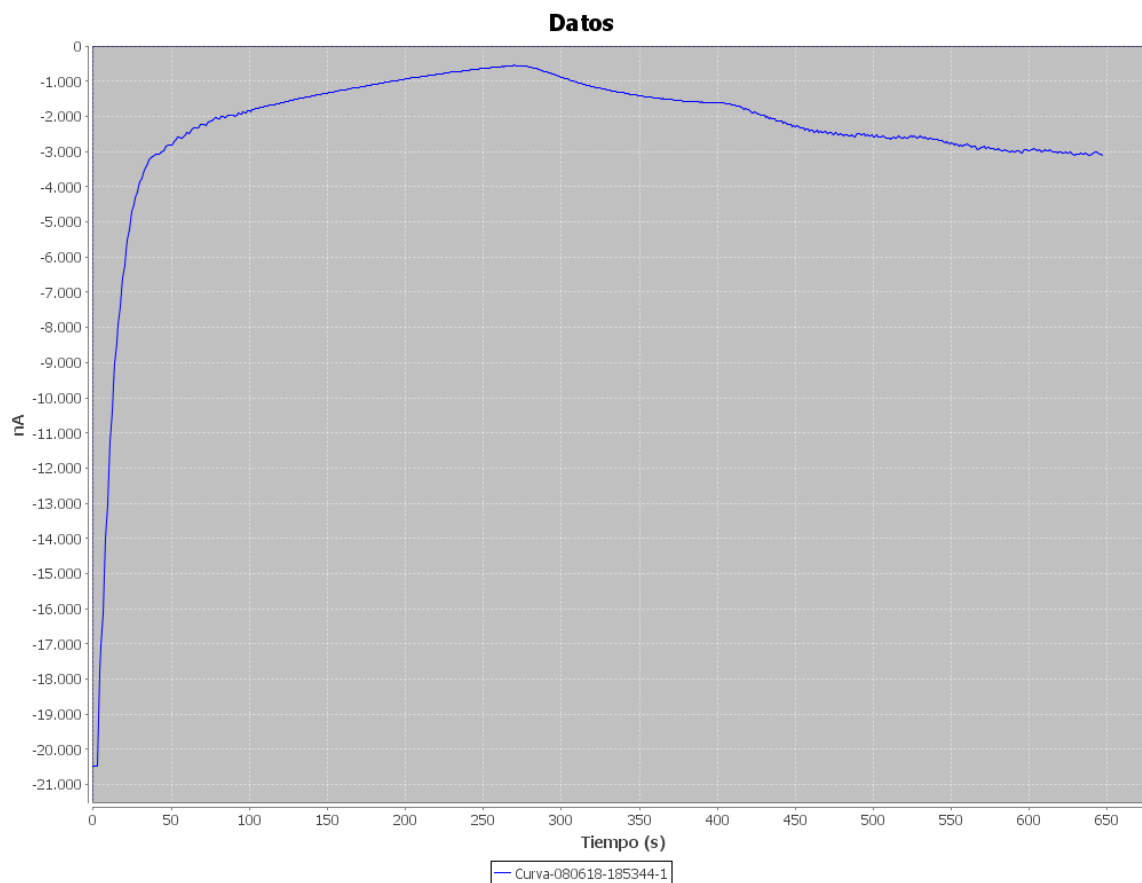


Figura 46 Respuesta global de la segunda prueba del sistema Inbea

En la siguiente tabla se muestran los resultados de esta segunda prueba:

Aplicación(50 ul)	Valor inicial(nA)	Valor final(nA)	Tiempo(s)	Amplitud(nA)
1°	-540	-1600	120	1060
2°	-1600	-2500	90	900
3°	-2500	-3100(Sat)	70	600

6 Conclusiones y trabajo futuro

A continuación se exponen en este apartado de la memoria unas conclusiones sobre el nuevo sistema diseñado, los resultados de las pruebas, y el trabajo que se podría seguir desarrollando.

6.1 Conclusiones

Tras las pruebas realizadas sobre los tres sistemas en la sección anterior, y con los resultados obtenidos, se pueden realizar una serie de observaciones.

En primer lugar, ha quedado probado que el nuevo sistema de potenciómetro LMP9100 construido es correcto. El sistema ha reaccionado correctamente como cabía esperar y al igual que los han hecho los otros sistemas con los que se compara.

En segundo lugar, con respecto a los resultados ofrecidos por los diferentes sistemas. El sistema Inbea es el que ofrece una respuesta más estable y con menos ruido respecto a los otros dos. Es el único sistema en el que no ha sido necesario aplicar un filtrado software para suavizar la señal de los resultados obtenidos.

También destaca el sistema Inbea por ser el que ha ofrecido el mejor tiempo de estabilización cuando se han aplicado las muestras de reactivo. Llegando a ser casi el doble de rápido que los otros dos sistemas. El sistema LMP9100 y el del HCTLab poseen tiempos similares.

El sistema LMP9100 es el que ofrece la respuesta con mayor amplitud de todos ante la aplicación del reactivo. Con una respuesta tan amplia, se aprecia en mayor medida las aplicaciones de diferentes cantidades de concentraciones. El sistema Inbea es el segundo con mayor amplitud de respuesta. El sistema del HCTLab ofrece una amplitud menor a los demás, luego la diferencia ante distintas concentraciones es menor que en los otros dos.

6.2 Trabajo futuro

En este trabajo se ha comprobado el funcionamiento del LMP9100 en las pruebas y comparaciones de los resultados obtenidos frente a los otros dos potenciostatos. Siendo los resultados de este correctos con una celda de tres electrodos y empleando el método de la amperometría.

Se podría ampliar la investigación sobre este sistema haciendo diferentes aplicaciones de otros reactivos sobre la celda. También realizando diferentes cambios sobre las configuraciones que este permite, ya que no sería necesario seguir asemejando las configuraciones de otro sistema a comparar. Diferentes reactivos, cambiar las diferencias de potencial entre los electrodos, probar diferentes amplitudes del amplificador, etc.

El sistema ofrece por si solo la posibilidad de la realización de otro trabajo y estudio individual de este sistema.

Referencias

- [1] E. Vargas, M. Ruiz, S. Campuzano, G. González de Rivera, F. López-Colino, A. Reviejo & J. Pingarrón, "Implementation of a new integrated D-lactic acid biosensor in a semiautomatic FIA system for the simultaneous determination of lactic acid enantiomers. Application to the analysis of beer samples.", in TALANTA, vol. 152, pp. 147-154, may 2016.
- [2] S. Girotti, M. Muratori, F. Fini, E.N. Ferri, G. Carrea, M. Koran, P. Rauch Eur. Food Res. Technol., 210 (2000)
- [3] A. Querol, G.H. Fleet (Eds.), The Yeast Handbook. Yeast in Food and Beverages, Springer, Germany (2006) ISBN-10 3-540-28388-9
- [4] M. Przybyt, J. Iciek, A. Papiewska, J. Biernasiak, J. Food Eng., 99 (2010)
- [5] Bănică, Florinel-Gabriel (2012). Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications. Chichester, UK: John Wiley & Sons. ISBN 9781118354230
- [6] Niina J. Ronkainen, H. Brian Halsall, and William R. Heineman. Electrochemical bio sensors. Chemical Society Reviews, 39:1747–1763, 2010.
- [7] Desarrollo de un potenciostato para la adquisición y tratamiento de la señal de biosensores enzimáticos. Luis Ortiz Fuentes, Octubre 2013.
- [8] Desarrollo de un sistema de medida de parámetros químicos basado en un sistema empotrado. Sergio Díaz Bartolomesanz, Junio 2015.
- [9] Beaglebone Black Datasheet. https://cdn-shop.adafruit.com/datasheets/BBB_SRM.pdf
- [10] LMP91000 Datasheet. <http://www.ti.com/lit/ds/symlink/lmp91000.pdf>
- [11] PC-bus specification and user manual .Rev. 6. NXP. 2014-04-04. UM10204.
- [12] Moreno, Daniel (noviembre de 2014). «Biosensores, el otro legado de Clark». Principia. ISSN 2386-5997
- [13] Wang, Joseph C. (2000). John Wiley & Sons, ed. Analytical electrochemistry. Chichester. ISBN 0-471-28272-3.
- [14] Kissinger, Peter; William R. Heineman (23 de enero de 1996). CRC, ed. Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry, Second edición, Revised and Expanded (2 edición).
- [15] Bard, Allen J.; Larry R. Faulkner (18 de diciembre de 2000). Wiley, ed. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications* (2 edición).

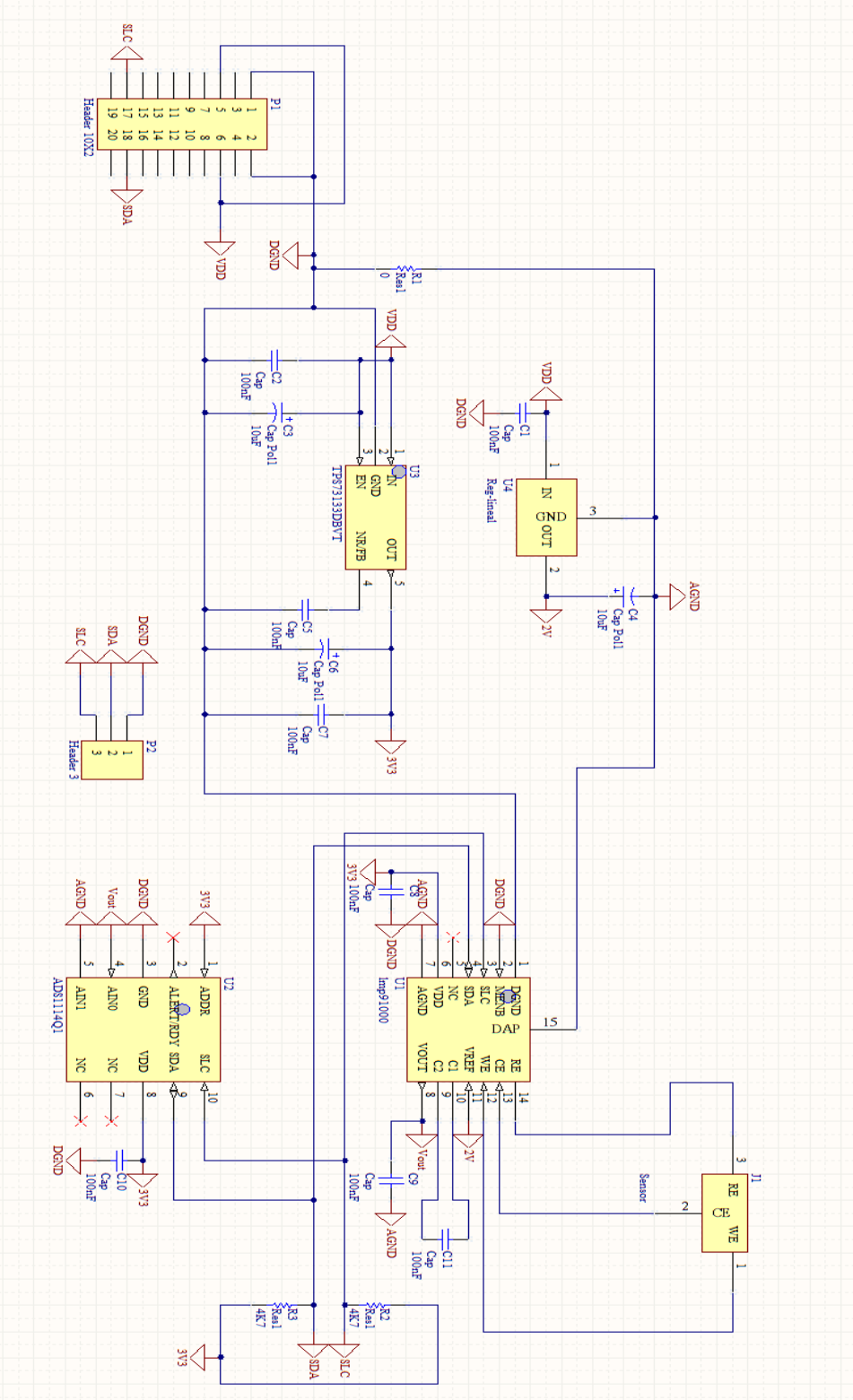
- [16] Hermann Berg (2008), "Johann Wilhelm Ritter – The Founder of Scientific Electrochemistry".
- [17] Edited by Kenneth I. Ozomwna (2007). Transworld Research Network, ed. Recent Advances in Analytical Electrochemistry 2007. ISBN 81-7895-274-2
- [18] Douglas A. Skoog, F. James Holler, Timothy A. Nieman Principles of Instrumental Analysis. Harcourt Brace College Publishers, 1998 ISBN 0-03-002078-6.
- [19] Hickling, A. (1942). «Studies in electrode polarisation. Part IV.-The automatic control of the potential of a working electrode». Transactions of the Faraday Society
- [20] Sivan Toledo. "I2C Interfacing Part 1: Adding Digital I/O Ports" Archived 2017-08-12 at the Wayback Machine. 2006
- [21] REF3012 Datasheet. <http://www.alldatasheet.com/datasheet-pdf/pdf/82927/TI/REF3012.html>
- [22] TPS73133DBVT Datasheet. <http://www.alldatasheet.com/datasheet-pdf/pdf/85857/TI/TPS73133DBVT.html>
- [23] ADS1114-Q1 Datasheet. <http://www.ti.com/lit/ds/symlink/ads1114-q1.pdf>
- [24] Altium Designer <https://www.altium.com/es>

Glosario

HCTLab	Human Computer Technology Laboratory
I2C	Inter-Integrated Circuit
SPI	Serial Peripheral Interface
SDA	Data Line
SLC	Clock Line
EPS	Escuela Politécnica Superior
PCB	Printed Circuit Board
UAM	Universidad Autónoma de Madrid
ADC	Analog-to-Digital Converter
GND	Ground (Tierra)
VSSOP	Very-thin Shrink Small-Outline Package
WSOP	Very-very-thin Small-Outline No-lead package
RPP	Resistencias de Polarización a Positivo
SO	Sistema Operativo

Anexos

A Esquema Sistema LMP9100



B Capas superior e inferior del sistema LMP9100

